

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCELO BARBA BELLETTINI

DESENVOLVIMENTO DE UM BIOPROCESSO INTEGRADO PARA VALORIZAÇÃO DE
BAINHA DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes* Kunth): PRODUÇÃO DE COGUMELOS
(*Pleurotus* spp.) E ALFACE (*Lactuca sativa*) cv. Verônica

CURITIBA
2014

MARCELO BARBA BELLETTINI

DESENVOLVIMENTO DE UM BIOPROCESSO INTEGRADO PARA VALORIZAÇÃO DE
BAINHA DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes* Kunth): PRODUÇÃO DE COGUMELOS
(*Pleurotus* spp.) E ALFACE (*Lactuca sativa*) cv. Verônica

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, setor de Tecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Ricardo Soccol

CURITIBA

2014

B442d

Bellettini, Marcelo Barba

Desenvolvimento de um bioprocesso integrado para valorização de
bainha de Pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth): produção de cogumelos
(*Pleurotus spp.*) e alface (*Lactuca sativa*) cv. Verônica / Marcelo Barba
Bellettini. – Curitiba, 2014.
134f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de
Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos,
2014.

Orientador: Carlos Ricardo Soccol.
Bibliografia: p. 117-134.

1. Pupunheira. 2. Pleurotus. 3. Resíduos como fertilizante. I. Universidade
Federal do Paraná. II. Soccol, Carlos Ricardo. III. Título.

CDD: 668.6374

MARCELO BARBA BELLETTINI

**DESENVOLVIMENTO DE UM BIOPROCESSO INTEGRADO
PARA VALORIZAÇÃO DE BAINHA DE PUPUNHA (*Bactris
gasipaes* Kunth): PRODUÇÃO DE COGUMELOS (*Pleurotus
spp.*) E ALFACE (*Lactuca sativa* cv. Verônica)**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientador:


Prof Dr. CARLOS RICARDO SOCCOL
Setor de Tecnologia, UFPR


Dr. LEANDRO FREIRE DOS SANTOS
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UNOPAR


Prof Dr. AGENOR MACCARI JUNIOR
Setor de Ciências Agrárias, UFPR

Curitiba, 12 de março de 2014.

Dedico esse trabalho ao meu melhor amigo, o Espírito Santo de Deus, que pela pessoa de Jesus Cristo, tanto mudou e continua mudando a minha vida, ao meu pai Sebastião, e a minha mãe Roseli, que tanto me fazem felizes e que têm o meu amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, cujo filho se chama Jesus Cristo, por todo o cuidado e amor que tem dado a minha vida. Minha eterna gratidão e reciprocidade desse amor.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Ricardo Soccol, pela honra do acompanhamento e orientação na pesquisa.

Ao Francisco Menino Destéfanis Vítola, que pacientemente me ensinou seus conhecimentos em cogumelos, tornando-se um grande parceiro na pesquisa científica e amigo.

Ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, na pessoa do seu coordenador Profa. Dra. Rosemary Hoffmann Ribani, a Profa. Dra. Agnes de Paula Scheer e ao Técnico de Laboratório Marcelo, pelo apoio recebido e pelo espaço cedido para realização dos experimentos e pelos ensinamentos laboratoriais.

Aos Professores Dr. Agenor Maccari Junior e Dra. Michele Rigon Spier, pelas contribuições e sugestões no trabalho.

Aos meus pais, Sebastião e Roseli Bellettini, por tanto terem insistido na realização do mestrado, e graças a isso, a pesquisa passou a ser parte da minha vida.

À lindíssima Fernanda Assumpção Fiorda, pelo conhecimento científico compartilhado e pela companhia maravilhosa de sempre.

Ao Bola de Neve Church Curitiba, pelos fundamentos obtidos na Palavra de Deus, que são como alimento para o meu viver e que pude levar em meus estudos.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os colegas da pós-graduação e aos amigos que direta e indiretamente acompanharam meu crescimento no desenvolvimento deste trabalho.

“As palavras do Mestre, filho de Davi, rei em Jerusalém:
Que grande inutilidade! ”, diz o Mestre. "Que grande inutilidade! Nada faz sentido!
O que o homem ganha com todo o seu trabalho em que tanto se esforça debaixo do sol?
Gerações vêm e gerações vão, mas a terra permanece para sempre.
O sol se levanta e o sol se põe, e depressa volta ao lugar de onde se levanta.
O vento sopra para o sul e vira para o norte; dá voltas e mais voltas, seguindo sempre o seu curso.
Todos os rios vão para o mar, contudo o mar nunca se enche; ainda que sempre corram para lá, para lá voltam a correr.
Todas as coisas trazem cansaço. O homem não é capaz de descrevê-las; os olhos nunca se saciam de ver, nem os ouvidos de ouvir.
O que foi tornará a ser, o que foi feito se fará novamente; não há nada novo debaixo do sol.
Haverá algo de que se possa dizer: "Veja! Isto é novo!" ? Não! Já existiu há muito tempo; bem antes da nossa época.
Ninguém se lembra dos que viveram na antiguidade, e aqueles que ainda virão tampouco serão lembrados pelos que vierem depois deles.
Eu, o mestre, fui rei de Israel em Jerusalém.
Dediquei-me a investigar e a usar a sabedoria para explorar tudo que é feito debaixo do céu. Que fardo pesado Deus pôs sobre os homens!
Tenho visto tudo o que é feito debaixo do sol; tudo é inútil, é correr atrás do vento!
O que é torto não pode ser endireitado; o que está faltando não pode ser contado.
Pensei comigo mesmo: Eu me tornei famoso e ultrapassei em sabedoria todos os que governaram Jerusalém antes de mim; de fato adquiri muita sabedoria e conhecimento.
Assim eu me esforcei para compreender a sabedoria, bem como a loucura e a insensatez, mas aprendi que isso também é correr atrás do vento.
Pois quanto maior a sabedoria maior o sofrimento; e quanto maior o conhecimento, maior o desgosto.”

Eclesiastes 1:1-18

"O temor do Senhor é o princípio da sabedoria, e o conhecimento do Santo é entendimento.

Provérbios 9:10

RESUMO

Neste trabalho é apresentada uma proposta para a utilização dos resíduos de bainha da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). O presente estudo foi dividido em 5 etapas. Na primeira realizou-se um experimento para avaliar a adaptação e o desenvolvimento radial de diferentes cepas de basidiomicetos, em diferentes frações da bainha de pupunha. Na segunda etapa, verificou-se quais fatores afetaram significativamente o desenvolvimento do fungo selecionado, utilizando a fermentação micelial submersa. Por terceiro, as bainhas foram submetidas a fermentação em estado sólido, pela técnica *Jun-Cao*, avaliando o seu potencial para a cultura de cogumelos comestíveis, bem como a influência da quantidade de inóculo e o número de furos para o desenvolvimento do *Pleurotus ostreatus*. Na quarta etapa observou-se o potencial antioxidante, proteico e produtivo em biomassa a partir da água de hidratação do substrato seco (pupunha) excessiva. A quinta etapa consistiu na análise da utilização dos resíduos da produção de cogumelos para adubação de solo na produção de alface (*Lactuca sativa*) cv. Verônica.

Os resultados demonstraram que, dentre as espécies testadas, *Pleurotus ostreatus* ($1,38 \pm 0,16$ cm/dia) e *Pleurotus djamor* ($1,38 \pm 0,1$ cm/dia) foram as que melhor se adaptaram à pupunha como substrato. O fator mais significativo para o aumento da quantidade de biomassa e frutificação no meio líquido fermentado por *Pleurotus djamor* foi a concentração de substrato de pupunha (80%). Os fatores mais significativos para o aumento da quantidade proteica foram a concentração do substrato (80%) e a adição de extrato de levedura (4,0 g/L). O fator mais significativo para o aumento da atividade antioxidante do produto final foi a adição de extrato de levedura (4,0 g/L).

Em relação a fermentação em estado sólido, utilizando *Pleurotus ostreatus*, no primeiro ciclo de frutificação o aumento na fração de inóculo com um menor número de furos no pacote tende a aumentar a Eficiência Biológica (EB). Em relação a produtividade (P), apenas o aumento no número de furos foi estatisticamente significativo no desenvolvimento do fungo, demonstrando que quanto maior o número de furos, maior a produtividade. No segundo ciclo de frutificação, verificou-se que uma menor quantidade de inóculo com maior número de furos possibilita maior EB. A menor quantidade de inóculo e número de furos, possibilitam maior P, demonstrando que quanto maior a EB ou P no primeiro ciclo de frutificação, menor será no segundo ciclo de frutificação. A concentração de umidade, cinzas e lipídeos no basidioma, independe da quantidade de inóculo ou do número de furos. O aumento na fração de inóculo e no número de furos resultou no aumento da quantidade de proteínas, e carboidratos totais. Este princípio pode ser explorado para o desenvolvimento processos para a produção de cogumelos com propriedades nutricionais melhoradas.

A água de hidratação residual mostrou-se um substrato útil para o cultivo micelial de espécies do gênero *Pleurotus*. Os produtos obtidos a partir do cultivo *Pleurotus djamor* e *Pleurotus ostreatus* utilizando a fração interna da bainha de pupunha apresentaram maior atividade antioxidante em relação aos cultivos utilizando a fração intermediária. O rendimento de biomassa não variou significativamente em função da cepa ou da fração do resíduo utilizada como substrato.

A mistura tanto de resíduos do processamento de palmito pupunha quanto de composto residual da produção de cogumelo *Pleurotus ostreatus* como substrato ao solo, tende a diminuir o crescimento de alface. Cogumelos lignocelulolíticos, como o *Pleurotus* spp., apresentam composto residual muito fibroso e com baixo conteúdo em nitrogênio, havendo a necessidade de um período completo de compostagem, para posterior utilização no enriquecimento de solo para diversas culturas agrícolas.

Palavras chave: Pupunha, composto residual, *Pleurotus*, alface.

ABSTRACT

In this work a proposal for the use of waste sheath of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) is presented. This study was divided into 5 steps. At first conducted an experiment to evaluate the adaptation and radial development of different strains of basidiomycetes in different fractions of the sheath of peach palm. In the second step, it was found factors which significantly affected the development of fungus selected using the mycelial submerged fermentation. On the third, the sheaths were subjected to solid state fermentation, the technical - Jun Cao, assessing their potential for cultivation of edible mushrooms , as well as the influence of the amount of inoculum and the number of holes for the development of *Pleurotus ostreatus*. In the fourth step we observed the antioxidant, protein and biomass production potential from the water of hydration of dry excessive substrate (peach palm). The fifth step of using treated waste from the production of mushrooms for analysis of soil fertilization on yield of lettuce (*Lactuca sativa*) cv. Veronica .

The results showed that the species *Pleurotus ostreatus* (1.38 ± 0.16 cm/day) and *Pleurotus djamor* (1.38 ± 0.1 cm/day) were the most adapted to peach palm as substrate, in which the most significant factor to increase the amount of biomass in the fermentation broth and fruiting of *Pleurotus djamor* was pupunha substrate concentration (80%). The most significant factors for increasing the mushrooms protein content were the substrate concentration (80%) and yeast extract addition (4.0 g/L). The most significant factor for increasing the antioxidant activity of the final product was yeast extract addition (4.0 g/L).

Regarding solid state fermentation using *Pleurotus ostreatus*, the first cycle of the fruiting growth of inoculum in the fraction with a lower number of holes in the package tends to increase the biological efficiency (EB). Regarding productivity (P), only the increase in the number of holes was statistically significant in the development of the fungus, showing that the larger the number of holes, the higher the productivity. In the second fruiting cycle, it was found that a minor amount of inoculum with larger holes enables higher EB. The lowest amount of inoculum and the number of holes, provide more P, showing that the larger the EB or P fruiting in the first cycle, the less fruit set in the second cycle. The concentration of moisture, ash and lipid basidioma, independent of the amount of inoculum or number of holes. The increase in the fraction of the inoculum and the number of holes results in increasing the amount of protein and total carbohydrates. These results show that new processes for producing nutritionally improved mushrooms can be developed, simply by manipulating the composition of cultivation substrates and adjusting cultivation procedures.

The residual peach palm inner sheath fraction hydration water fermented by *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus djamor* showed higher antioxidant activity compared to products obtained by using the intermediate sheath fraction as substrate. The biomass yield did not vary significantly as a function of strain or residue fraction.

The addition of both peach palm processing residues or fresh *Pleurotus ostreatus* spent mushroom substrate to the soil, as fertilizers, reduced the growth of lettuce. Lignocellulolytic mushrooms such as *Pleurotus* spp., residual substrate present very fibrous structure and low nitrogen content , thus requiring a full period of composting , for later use in enriching the soil for several crops .

Keywords: Pupunha, residual compound, *Pleurotus*, lettuce.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - LOCALIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL COM PLANTIO DE PUPUNHEIRA PARA PALMITO	64
FIGURA 2 - PUPUNHA TRITURADA EM MOINHO DE FACAS	65
FIGURA 3 - PUPUNHA SECA TRITURADA	66
FIGURA 4 – FRASCOS ERLLENMEYER INOCULADOS COM <i>Pleurotus djamor</i> .	69
FIGURA 5 - PACOTE DE “SPAWN” INOCULADO	72
FIGURA 6 - PACOTE DE “SPAWN” COLONIZADO	72
FIGURA 7 - MICÉLIO DE <i>Pleurotus ostreatus</i> FORMADO NO SUBSTRATO	73
FIGURA 8 - SALA DE INCUBAÇÃO PARA O CRESCIMENTO MICELIAL	74
FIGURA 9 - SALA DE FRUTIFICAÇÃO DE <i>Pleurotus ostreatus</i>	74
FIGURA 10 – ESQUEMA DE MEDIÇÃO DO BASIDIOMA	77
FIGURA 11 – CULTIVO DE ALFACE NOS VASOS EM ESTUFA APÓS 5 DIAS DE PLANTIO.	84
FIGURA 12 – DIAGRAMA DE PARETO PARA SIGNIFICÂNCIA DE PRODUÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EXPRESSOS EM MG/ML DE TEAC (ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EQUIVALENTE AO TROLOX) NA FRAÇÃO LÍQUIDA INTERNA DE PUPUNHA EM FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA POR <i>Pleurotus djamor</i> EM 14 DIAS. COMPARAÇÕES: ANOVA/TUKEY (P<0,05)	89
FIGURA 13 – DIAGRAMA DE PARETO PARA SIGNIFICÂNCIA DE PRODUÇÃO DE BIOMASSA EXPRESSO EM G/L NA FRAÇÃO LÍQUIDA INTERNA DE PUPUNHA EM FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA POR <i>Pleurotus djamor</i> EM 14 DIAS. COMPARAÇÕES: ANOVA/TUKEY (P<0,05)	90
FIGURA 14 – DIAGRAMA DE PARETO PARA SIGNIFICÂNCIA DE FRUTIFICAÇÃO DO MICÉLIO NO CALDO DE PUPUNHA EM FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA POR <i>Pleurotus djamor</i> EM 14 DIAS. COMPARAÇÕES: ANOVA/TUKEY (P<0,05),	90
FIGURA 15 – DIAGRAMA DE PARETO PARA SIGNIFICÂNCIA DE PRODUÇÃO DE PROTEÍNA EXPRESSO EM MG/ML NA FRAÇÃO LÍQUIDA INTERNA DE PUPUNHA EM FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA POR <i>Pleurotus djamor</i> EM 14 DIAS. COMPARAÇÕES: ANOVA/TUKEY (P<0,05)	91
FIGURA 16 – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E DE CONTOURNO PARA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) E PRODUTIVIDADE (P) NA PRIMEIRA	97

FRUTIFICAÇÃO (A E B, RESPECTIVAMENTE) E SEGUNDA FRUTIFICAÇÃO (B E C, RESPECTIVAMENTE) EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE FUROS E DA QUANTIDADE DE INÓCULO NOS PACOTES PARA PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus*

FIGURA 17 – GRÁFICO DE PARETO PARA QUANTIDADE DE PROTEÍNAS EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE FUROS E QUANTIDADE DE INÓCULO NOS PACOTES PARA PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA 99

FIGURA 18 – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA QUANTIDADE DE PROTEÍNAS (A) E CARBOIDRATOS TOTAIS (B) EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE FUROS E DA QUANTIDADE DE INÓCULO NOS PACOTES PARA PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA. 102

FIGURA 19 – ASPECTO VISUAL INFERIOR DE ERLNMEYER CONTENDO CULTIVO MICELIAL SUBMERSO DE *Pleurotus djamor* (ESQUERDA) E *Pleurotus ostreatus* (DIREITA) NA FRAÇÃO INTERNA DO RESÍDUO DE PUPUNHA APÓS 14 DIAS DE FERMENTAÇÃO 103

FIGURA 20 – ASPECTO VISUAL INFERIOR DE ERLNMEYER CONTENDO CULTIVO MICELIAL SUBMERSO DE *Pleurotus djamor* (ESQUERDA) E *Pleurotus ostreatus* (DIREITA) NA FRAÇÃO INTERMEDIÁRIA DO RESÍDUO DE PUPUNHA APÓS 14 DIAS DE FERMENTAÇÃO 104

FIGURA 21 - CRESCIMENTO DA ALFACE (cm) PARA ALTURA E LARGURA APÓS 23 DE PLANTIO PARA CADA TRATAMENTO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA, PARA DIFERENTES TRATAMENTOS, NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELA ANOVA/TUKEY ($P<0,05$), COM BASE EM 20 REPETIÇÕES. TRATAMENTOS UTILIZADOS: T1 (SOLO), T2 (SOLO + 5% DE R_P), T3 (SOLO + 10% DE R_P), T4 (SOLO + 15% DE R_P), T5 (SOLO + 5% DE R_C), T6 (SOLO + 10% DE R_C) E T7 (SOLO + 15% DE R_C) 108

FIGURA 22 - CRESCIMENTO DA ALFACE PARA ALTURA, LARGURA E COMPRIMENTO DA RAIZ (cm) APÓS 63 DE PLANTIO PARA CADA TRATAMENTO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA, PARA DIFERENTES TRATAMENTOS, NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELA ANOVA/TUKEY ($P<0,05$), COM BASE EM 20 REPETIÇÕES. TRATAMENTOS UTILIZADOS: T1 (SOLO), T2 (SOLO + 5% DE R_P), T3 (SOLO + 10% DE R_P), T4 (SOLO + 15% DE R_P), T5 (SOLO + 5% DE R_C), T6 (SOLO + 10% DE R_C) E T7 (SOLO + 15% DE R_C) 109

FIGURA 23 – NÚMERO DE FOLHAS DE ALFACE APÓS 23 E 63 DE PLANTIO PARA CADA TRATAMENTO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA, PARA DIFERENTES TRATAMENTOS, NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELA ANOVA/TUKEY ($P<0,05$), COM BASE EM 20 REPETIÇÕES. TRATAMENTOS UTILIZADOS: T1 (SOLO), T2 (SOLO + 5% DE R_P), T3 (SOLO + 10% DE R_P), T4 (SOLO + 15% DE R_P), T5 (SOLO + 5% DE R_C), T6 (SOLO + 10% DE R_C) E T7 (SOLO + 15% DE R_C) 110

FIGURA 24 – AMOSTRA DA PARTE AÉREA E RADICULAR DE ALFACE APÓS 63 DIAS DE PLANTIO DE SOLO CONTENDO PUPUNHA 111

FIGURA 25 - ASPECTO VISUAL DE EXEMPLAR DE *L. SATIVA* CULTIVADOS EM SOLO COM 5% DE CR DE *PLEUROTUS OSTREATUS* (T5) AO FINAL DE 65 DIAS DE CULTIVO 111

FIGURA 26 – PARTE AÉREA DA ALFACE COLHIDA APÓS 63 DIAS DE PLANTIO PARA OS TRATAMENTOS DE SOLO (T1-T7) CONTENDO PUPUNHA COM (CR) E SEM MICÉLIO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* 112

FIGURA 27 – PARTE RADICULAR DA ALFACE COLHIDA APÓS 63 DIAS DE PLANTIO PARA OS TRATAMENTOS DE SOLO (T1-T7) CONTENDO PUPUNHA COM (CR) E SEM MICÉLIO DE *Pleurotus ostreatus* 113

FIGURA 28 – PESO ÚMIDO (g) DA PARTE AÉREA, DA RAIZ E TOTAL DA ALFACE APÓS 63 DIAS DE PLANTIO (COLHEITA DA ALFACE) PARA CADA TRATAMENTO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA, PARA DIFERENTES TRATAMENTOS, NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELA ANOVA/TUKEY ($P < 0,05$), COM BASE EM 20 REPETIÇÕES. TRATAMENTOS UTILIZADOS: T1 (SOLO), T2 (SOLO + 5% DE R_P), T3 (SOLO + 10% DE R_P), T4 (SOLO + 15% DE R_P), T5 (SOLO + 5% DE R_C), T6 (SOLO + 10% DE R_C) E T7 (SOLO + 15% DE R_C) 113

FIGURA 29 – PESO SECO (g) DA PARTE AÉREA, DA RAIZ E TOTAL DA ALFACE APÓS 63 DIAS DE PLANTIO (COLHEITA DA ALFACE) PARA CADA TRATAMENTO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA, PARA DIFERENTES TRATAMENTOS, NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELA ANOVA/TUKEY ($P < 0,05$), COM BASE EM 20 REPETIÇÕES. TRATAMENTOS UTILIZADOS: T1 (SOLO), T2 (SOLO + 5% DE R_P), T3 (SOLO + 10% DE R_P), T4 (SOLO + 15% DE R_P), T5 (SOLO + 5% DE R_C), T6 (SOLO + 10% DE R_C) E T7 (SOLO + 15% DE R_C) 114

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E VALOR CALÓRICO DA BAINHA DE PUPUNHA	26
TABELA 2 - PRINCIPAIS ALVOS BIOQUÍMICOS NOS ESTUDOS DAS PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS DE COGUMELOS	30
TABELA 3 – COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE ALGUNS COGUMELOS COMESTÍVEIS	32
TABELA 4 - PRODUÇÃO NACIONAL DE COGUMELOS COMESTÍVEIS EM 2011	33
TABELA 5 - AMPLITUDES DE TEMPERATURA (°C) PARA REALIZAR/OTIMIZAR O DESENVOLVIMENTO MICELIAL (TDM E TDM ÓTIMO) E A FRUTIFICAÇÃO (TFRUTIFICAÇÃO) PARA ESPÉCIES DIFERENTES DE COGUMELOS, COM SUAS TÉCNICAS APROPRIADAS PARA A PREPARAÇÃO DO SUBSTRATO	39
TABELA 6 - COMPARAÇÃO DO CONTEÚDO DE NUTRIENTES EM DIFERENTES TÉCNICAS DE CULTIVO	42
TABELA 7 - EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) PARA ALGUNS TIPOS DE SUBSTRATOS UTILIZANDO <i>Pleurotus</i> spp.	50
TABELA 8 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DE <i>Pleurotus ostreatus</i> EM DIFERENTES SUBSTRATOS DE SERRAGEM	52
TABELA 9 - DADOS DE PRODUÇÃO DE <i>Pleurotus ostreatus</i> EM DIFERENTES SUBSTRATOS	52
TABELA 10 - EFEITO DA QUANTIDADE DE INÓCULO NA EB (EFICIÊNCIA BIOLÓGICA) DE <i>Pleurotus</i> spp.	53
TABELA 11 - EFEITO DOS FUROS NA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) DE <i>Pleurotus</i> spp.	56
TABELA 12 - PERFIL BIOLÓGICO DE <i>Pleurotus ostreatus</i> CULTIVADOS EM RESÍDUOS MADEIREIROS (SERRAGENS) NO PERÍODO DE 100 DIAS DE CULTIVO	57
TABELA 13 - VARIÁVEIS E NÍVEIS UTILIZADOS NO PLANEJAMENTO DO TIPO PLACKETT-BURMAN (6 VARIÁVEIS, 12 ENSAIOS E 3 REPETIÇÕES NO PONTO CENTRAL)	68
TABELA 14 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DO TIPO PLACKETT-BURMAN (6 VARIÁVEIS, 12 ENSAIOS E 3 REPETIÇÕES NO PONTO CENTRAL) PARA ESTUDO DOS EFEITOS DA COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTURA E DAS CONDIÇÕES DE FERMENTAÇÃO EM RELAÇÃO À ATIVIDADE DE ANTIOXIDANTE, QUANTIDADE DE PROTEÍNAS E DE BIOMASSA	68
TABELA 15 - CRESCIMENTO DO <i>Pleurotus ostreatus</i> EM DIFERENTES	72

SUBSTRATOS NATURAIS (ARROZ, TRIGO, CENTEIO E BAGAÇO DE MANDIOCA) E EM MEIO COMPLEXO (SINTÉTICO)

TABELA 16 - PLANEJAMENTO FATORIAL DOS EXPERIMENTOS PARA A PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus*. OS ÍNDICES (-) E (+) INDICAM O NÍVEL DE CADA VARIÁVEL COMO INFERIOR E SUPERIOR, RESPECTIVAMENTE 75

TABELA 17 - TRATAMENTOS UTILIZADOS PARA ENRIQUECIMENTO DE SOLO COM COMPOSTO RESIDUAL DE PUPUNHA (R_P) E *Pleurotus ostreatus* (R_C) 83

TABELA 18 - CRESCIMENTO RADIAL FÚNGICO MÉDIO (CM/DIA) PARA DIFERENTES ESPÉCIES DE COGUMELOS NA FRAÇÃO INTERNA E EXTERNA DA BAINHA DE PUPUNHA 87

TABELA 19 – DESENVOLVIMENTO MICELIAL SUBMERSO DE *Pleurotus djamor* NA FRAÇÃO LÍQUIDA INTERNA DA BAINHA DE PUPUNHA EM RELAÇÃO A QUANTIDADE PROTEICA E DE BIOMASSA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FRUTIFICAÇÃO 88

TABELA 20 – PERFIL BIOLÓGICO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA NO PRIMEIRO FLUXO DE PRODUÇÃO 92

TABELA 21 – PERFIL BIOLÓGICO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA NO SEGUNDO FLUXO DE PRODUÇÃO 93

TABELA 22 – DADOS EXPERIMENTAIS E VALORES RESPOSTA OBSERVADOS COM DIFERENTES COMBINAÇÕES DE FRAÇÃO DE INÓCULO E NÚMERO DE FUROS PARA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) E PRODUTIVIDADE (P) NA PRIMEIRA E SEGUNDA FRUTIFICAÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM RESÍDUO DE PUPUNHA 94

TABELA 23 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA), ERRO PURO, FALTA DE AJUSTE E COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA EQUAÇÃO POLINOMIAL DE SEGUNDA ORDEM PARA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) E PRODUTIVIDADE (P) NA PRIMEIRA E SEGUNDA FRUTIFICAÇÃO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA 95

TABELA 24 – DADOS EXPERIMENTAIS E VALORES DE RESPOSTA OBSERVADOS E PREDITOS COM DIFERENTES COMBINAÇÕES DE FRAÇÃO DE INÓCULO E NÚMERO DE FUROS PARA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) E PRODUTIVIDADE (P) NA PRIMEIRA E SEGUNDA FRUTIFICAÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM RESÍDUO DE PUPUNHA 95

TABELA 25 - COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE *Pleurotus ostreatus*, UTILIZANDO BAINHA DE PUPUNHA COMO SUBSTRATO, EXPRESSO EM PORCENTAGEM EM BASE SECA 98

TABELA 26 – DADOS EXPERIMENTAIS E VALORES DE RESPOSTA OBSERVADOS COM DIFERENTES COMBINAÇÕES DE FRAÇÃO DE INÓCULO E NÚMERO DE FUROS PARA QUANTIDADE DE PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS TOTAIS NOS BASIDIOMAS DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM RESÍDUO DE PUPUNHA 100

TABELA 27 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA), ERRO PURO, FALTA DE AJUSTE E COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA EQUAÇÃO POLINOMIAL DE SEGUNDA ORDEM PARA QUANTIDADE DE PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS TOTAIS NA EM BASIDIOMAS DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA 101

TABELA 28 – DADOS EXPERIMENTAIS E VALORES DE RESPOSTA OBSERVADOS E PREDITOS COM DIFERENTES COMBINAÇÕES DE FRAÇÃO DE INÓCULO E NÚMERO DE FUROS PARA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) E PRODUTIVIDADE (P) NA PRIMEIRA E SEGUNDA FRUTIFICAÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM RESÍDUO DE PUPUNHA 101

TABELA 29 – RENDIMENTO EM BIOMASSA E ANTIOXIDANTE NA AGUA DE HIDRATAÇÃO RESIDUAL FERMENTADA POR *Pleurotus djamor* E *Pleurotus ostreatus* NAS BAINHAS DA PARTE DE DENTRO E DO MEIO DA PUPUNHA 104

TABELA 30 – ANÁLISE DE ROTINA PARA AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE DO SOLO COM ADIÇÃO DE R_p E R_c APÓS 40 DIAS DE COMPOSTAGEM, PRÉ-CULTIVO. ACIDEZ TROCÁVEL (Al^{+3}) E TITULÁVEL ($H^+ + Al^{+3}$), POTÁSSIO (K^+), MACRONUTRIENTES SECUNDÁRIOS (Ca^{+2} E Mg^{+2}) E SOMA DE BASES (Ca^{+2} , Mg^{+2} E K^+) 105

TABELA 31 - ANÁLISE DE ROTINA PARA AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE DO SOLO PARA VALORES DE CAPACIDADE DE TROCA CATIONICA (T), FÓSFORO (P), CARBONO (C), MATÉRIA ORGÂNICA (MO), PORCENTAGEM DE SATURAÇÃO POR BASES (V) E ALUMÍNIO (M) NO SOLO COM ADIÇÃO DE R_p E R_c APÓS 40 DIAS DE COMPOSTAGEM 106

TABELA 32 – ANÁLISE DE ROTINA PARA AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE DO SOLO COM ADIÇÃO DE R_p E R_c APÓS 63 DIAS DE CULTIVO. ACIDEZ TROCÁVEL (Al^{+3}) E TITULÁVEL ($H^+ + Al^{+3}$), POTÁSSIO (K^+), MACRONUTRIENTES SECUNDÁRIOS (Ca^{+2} E Mg^{+2}) E SOMA DE BASES (Ca^{+2} , Mg^{+2} E K^+) 107

TABELA 33 - ANÁLISE DE ROTINA PARA AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE DO SOLO PARA VALORES DE CAPACIDADE DE TROCA CATIONICA (T), FÓSFORO (P), CARBONO (C), MATÉRIA ORGÂNICA (MO), PORCENTAGEM DE SATURAÇÃO POR BASES (V) E ALUMÍNIO (m) NO SOLO COM ADIÇÃO DE R_p E R_c , POR TRATAMENTO, APÓS 63 DIAS DE CULTIVO 107

TABELA 34 – VALORES DE NITROGÊNIO (N_2) NO SOLO PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (T1-T7) APÓS 63 DIAS DE PLANTIO DE ALFACE 112

LISTA DE ABREVIATURAS, UNIDADES E SIGLAS

cal	caloria
cm	centímetros
cmol _c	centimolc
CR	composto residual
CR _C	composto residual de cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i>
CR _P	composto residual de pupunha
dm ³	decímetro cúbico
EB	eficiência biológica
Eq.	equação
g	grama
ha	hectare
Kcal	quilocaloria
L	litro
Lux	unidade de luz
m	metro
N	normalidade
M	molar
m ³	metro cúbico
mg	miligrama
mm	milímetro
nm	nanômetro
P	produtividade
pH	potencial hidrogeniônico
R ²	coeficiente de determinação
rpm	rotação por minuto
spp.	espécies de gênero conhecido
t	tonelada

LISTA DE SÍMBOLOS

beta	β
por cento	%
graus Celsius	$^{\circ}\text{C}$
menor	<
maior	>
micro	μ
marca registrada	®

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 OBJETIVO GERAL	23
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
2 REVISÃO DE LITERATURA	25
2.1. CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE DE PLANTA ESTUDADA	25
2.1.1 Taxonomia e reciclagem de resíduos da colheita	25
2.2. FUNGOS.....	26
2.2.1 Conceito de fungos e cogumelos.....	26
2.2.2 Histórico e aspectos gerais dos cogumelos.....	27
2.3 IMPORTÂNCIA DOS COGUMELOS PARA A BIOTECNOLOGIA.....	28
2.3.1 Produção de fármacos.....	29
2.3.2 Produção de alimentos	31
2.3.3 Produção de enzimas	32
2.4 SITUAÇÃO ATUAL E PERSPECTIVAS FUTURAS PARA O MERCADO BRASILEIRO DE COGUMELOS.....	33
2.5 FATORES QUE ACARRETAM ALTERAÇÕES NA PRODUÇÃO DE COGUMELOS.....	34
2.5.1 Fatores Nutricionais (Fatores intrínsecos)	34
2.5.1.1 <i>Nutrição</i>	34
2.5.1.2 <i>Relação carbono x nitrogênio (C/N)</i>	35
2.5.1.3 <i>Valor do pH (potencial hidrogênionico)</i>	35
2.5.1.4 <i>Fontes de nitrogênio</i>	35
2.5.1.5 Minerais	36
2.5.1.6 Aeração e Agitação.....	37
2.5.1.7 Tamanho da partícula	37
2.5.2 Fatores Ambientais (Fatores extrínsecos)	38
2.5.2.1 <i>Umidade</i>	38
2.5.2.2 <i>Temperatura</i>	38
2.5.2.3 <i>Luminosidade</i>	39
2.5.2.4 <i>Ar ambiente</i>	40
2.6 TÉCNICAS DE CULTIVO.....	40
2.6.1 Técnica Jun-Cao.....	40
2.6.2 Vantagens do cultivo de cogumelos pela técnica Jun-Cao.....	41
2.7 <i>PLEUROTUS SPP.</i>	42
2.8 FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA (FMS) E EM ESTADO SÓLIDO (FES).....	44
2.8.1 Fermentação micelial submersa (FMS)	44
2.8.2 Fermentação em estado sólido (FES)	45
2.8.2.1 <i>Vantagens da fermentação em estado sólido (FES)</i>	46
2.8.2.2 <i>Desvantagens da fermentação em estado sólido (FES)</i>	47
2.9 CULTIVO DE <i>PLEUROTUS SPP.</i> PELA TÉCNICA JUN-CAO EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO (FES).....	48
2.9.1 Preparo da matriz (cultura de tecido).....	48
2.9.2 Produção de inóculo (semente ou “spawn”)	48
2.9.3 Escolha do Substrato.....	49
2.9.4 Preparo do Substrato.....	51
2.9.5 Inoculação da semente (“spawn”) no substrato e incubação.....	52
2.9.6 Frutificação e colheita	55
2.10 RESÍDUO DA PRODUÇÃO DE COGUMELOS.....	57
2.11 FORMAÇÃO DO SOLO, HUMIDIFICAÇÃO, MINERALIZAÇÃO E CONVERSÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA	59

2.12 ALFACE	60
2.13 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	62
2.13.1 ANOVA	62
2.13.2 Plackett & Burman	62
2.13.3 Fatorial de 2 ² com repetição nos pontos centrais	63
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	64
3.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE COLETA EXPERIMENTAL E CARACTERIZAÇÃO DA PUPUNHA	64
3.2 PREPARAÇÃO INICIAL DAS AMOSTRAS DE BAINHA DE PUPUNHA E ARMAZENAMENTO.....	64
3.3 MICROORGANISMO E MANUTENÇÃO	65
3.4 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO MICELIAL DE DIFERENTES CEPAS DE COGUMELOS, EM DIFERENTES FRAÇÕES DE BAINHA DE PUPUNHA.....	66
3.4.1 Preparo da amostra	66
3.4.2 Avaliação de crescimento radial fúngico e escolha do microrganismo adequado para desenvolvimento em bainha de pupunha.	67
3.5 FATORES SIGNIFICATIVOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE <i>PLEUROTUS DJAMOR</i> NA FRAÇÃO LÍQUIDA DA BAINHA DE PUPUNHA EM RELAÇÃO A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, QUANTIDADE PROTEICA, BIOMASSA E FRUTIFICAÇÃO NA FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA.	67
3.5.1 Planejamento estatístico.....	67
3.5.2 Preparo da amostra	69
3.5.3 Determinação de atividade antioxidante pelo método ABTS	69
3.5.4 Ocorrência de frutificação	70
3.5.5 Determinação do teor proteico pelo método de fenol (Follin-Ciocalteau-Lowry).....	70
3.5.6 Determinação da quantidade de biomassa.....	70
3.6 INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE INÓCULO E DO NÚMERO DE FUROS NO CULTIVO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS UTILIZANDO BAINHA DE PUPUNHA, SUBMETIDA A FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO PELA TÉCNICA <i>JUN-CAO</i>	71
3.6.1 Aspectos iniciais considerados	71
3.6.2 Preparo do inóculo (semente ou “spawn”)	71
3.6.3 Preparo do substratos e incubação	73
3.6.4 Planejamento estatístico.....	75
3.6.5 Comportamento fisiológico dos basidiomas.....	76
3.6.6 Avaliação dos parâmetros produtivos	77
3.6.6.1 <i>Eficiência Biológica (EB)</i>	77
3.6.6.2 <i>Produtividade (P)</i>	77
3.6.7 Análises físico-químicas	78
3.6.7.1 <i>Umidade</i>	78
3.6.7.2 <i>Cinzas</i>	78
3.6.7.3 <i>Lipídeos totais</i>	78
3.6.7.4 <i>Proteína bruta</i>	79
3.6.7.5 <i>Carboidrato total</i>	80
3.7 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E PRODUTIVO EM BIOMASSA DE <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> E <i>PLEUROTUS DJAMOR</i> A PARTIR DA ÁGUA RESIDUAL DE BAINHA DE PUPUNHA SECA.....	81
3.8 AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DA BAINHA DE PUPUNHA (<i>BACTRIS GASIPAES</i> KUNTH) E DO COMPOSTO RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELO <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> (CR) COMO CONDICIONADOR DE SOLO NO DESENVOLVIMENTO DE ALFACE (<i>LACTUCA SATIVA</i>) CV. VERÔNICA	81
3.8.1 Obtenção e preparo do resíduo de pupunha e do resíduo do cultivo de <i>P. ostreatus</i>	81

3.8.2 Solo utilizado	82
3.8.3 Planejamento experimental	82
3.8.4 Avaliação da fertilidade do solo antes e depois do cultivo <i>Lactuca sativa</i>	84
3.8.5 <i>Lactuca sativa</i> e obtenção das mudas.....	84
3.8.6 Local do experimento.....	85
3.8.7 Manejo e acompanhamento	85
3.8.8 Avaliação do desenvolvimento de <i>Lactuca sativa</i> cultivado no solo adicionado de R_P e R_C	86
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
4.1 AVALIAÇÃO DE CRESCIMENTO RADIAL FÚNGICO E ESCOLHA DO MICRORGANISMO ADEQUADO PARA O SUBSTRATO	87
4.2 FATORES SIGNIFICATIVOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE <i>PLEUROTUS DJAMOR</i> NA FRAÇÃO LÍQUIDA DA BAINHA DE PUPUNHA EM RELAÇÃO A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, QUANTIDADE PROTEICA E DE BIOMASSA NA FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA.....	88
4.3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PARA A CULTURA DE COGUMELOS COMESTÍVEIS UTILIZANDO BAINHA DE PUPUNHA, SUBMETIDOS A FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO, PELA TÉCNICA <i>JUN-CAO</i> , BEM COMO OS FATORES SIGNIFICATIVOS PARA O DESENVOLVIMENTO DO <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i>	91
4.3.1 Comportamento fisiológico	91
4.3.2 Avaliação dos parâmetros produtivos	93
4.3.3 Análises Físico-Químicas	98
4.4 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E PRODUTIVO EM BIOMASSA A PARTIR DA ÁGUA DE HIDRATAÇÃO RESIDUAL DO SUBSTRATO SECO (PUPUNHA)	103
4.5 AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DA BAINHA DE PUPUNHA (<i>BACTRIS GASIPAES</i> KUNTH) E DO COMPOSTO RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELO <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> COMO CONDICIONADOR DE SOLO NO DESENVOLVIMENTO DE ALFACE (<i>LACTUCA SATIVA</i>) CV. VERÔNICA.....	105
5 CONCLUSÃO.....	117
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países que mais produz e consome palmito no mundo (SAMPAIO *et al.*, 2007). Este agronegócio, baseia-se na extração de palmáceas nativas pertencentes ao gênero *Euterpe*, com destaque para o açaí (*Euterpe oleracea*) e a juçara (*Euterpe edulis*). O investimento neste novo mercado torna-se importante para o desenvolvimento do Agronegócio nas diferentes regiões do Brasil.

Neste sentido, novas regiões potenciais para o cultivo de diferentes espécies de palmáceas estão surgindo em todo território nacional, com ênfase para a padronização e valorização do palmito produzido. Todo esse processo ajuda a desestimular o consumo clandestino e ilegal, que acontece a décadas, resultando no desmatamento de novas áreas nativas da mata atlântica (CORREIA, 2011).

Como o palmito é retirado dos estipes da palmeira, torna-se necessário cortar a planta inteira. A juçara não perfilha e o açaí tem um crescimento relativamente lento. Uma alternativa para minimizar essas situações é o uso da pupunheira, que segundo Villachica (1996a), pode haver de 1 a 20 perfilhos por planta, e raramente são encontradas plantas que não perfilham. Essa espécie, originária da Amazônia com bom desenvolvimento no litoral do Paraná, vem tornando-se promissora para os pequenos e médios produtores desta região, visto que é precoce, rústica e com produção de palmito com baixo nível de oxidação e alto rendimento industrial (CHAIMSOHN, 2001).

Silva *et al.* (2010) cita que pouco tem sido feito na transformação ou aproveitamento destes resíduos, tanto pelo produtores quanto pelas autoridades públicas, constituindo-se em alguns locais um problema ambiental e de saúde pública. Dados médios fornecidos por meio de comunicação pessoal (indústrias de beneficiamento) declaram que, de todo um material, como por exemplo banana, chá e pupunha processado, depois do beneficiamento, cerca de 70% são resíduos. No caso da pupunha, por exemplo, de uma “haste” de 2600 g, aproximadamente 1820 g são resíduos, e apenas 780 g são efetivamente aproveitados para consumo. Ou seja, uma pequena fábrica que chega a beneficiar em torno de 3000 “cabeças” por dia, gera em torno de 5,5 t dia⁻¹ de resíduo, representando, em um mês de 24 dias úteis, algo em torno de 131 t mês⁻¹.

O aumento extensivo na quantidade de resíduos gerados é um dos principais problemas ambientais, agravando-se pela ausência de políticas públicas para a coleta seletiva, reciclagem e reaproveitamento dos resíduos gerados e preservação da integridade dos ecossistemas (ZANIN; MANCINI, 2004).

Os resíduos orgânicos, produzidos e não aproveitados, podem ser utilizados para o desenvolvimento de atividades rentáveis e viáveis, com destaque para o processo de bioconversão. O cultivo de cogumelos comestíveis, utilizando resíduos de matéria orgânica para seu crescimento, é uma excelente alternativa, por gerar alimentos de alto valor nutricional a partir de resíduos (BISARIA; MADAN; VASU-DEVAN, 1987).

A produção de cogumelos comestíveis e medicinais vem aumentando e se expandindo em todo o mundo, inclusive no Brasil, utilizando resíduos agroindustriais de natureza lignocelulósica (RIBAS, 2009). O cultivo de cogumelos possibilitaria o desenvolvimento para produtores de pequenas propriedades rurais como uma alternativa para o reaproveitamento de seus resíduos agroindustriais, aumentando sua renda e geração de emprego, resultando em progresso para a região (URBEN, 2004b).

No Brasil, a produção de cogumelos é ainda escassa e está restrito às regiões Sul e Sudeste. Os cogumelos mais conhecidos pelos brasileiros são: o Champignon de Paris (*Agaricus bisporus*); shitake (*Lentinula edodes*); shimeji, cogumelo ostra ou hiratake (*Pleurotus ostreatus*) e cogumelo princesa ou cogumelo da vida (*Agaricus blazei*) (URBEN, 2004b).

Os basidiomicetos do gênero *Pleurotus* são macrofungos encontrados naturalmente nas florestas úmidas tropicais e subtropicais, decompositores de madeira e de resíduos vegetais (BONATTI *et al.*, 2004). O *Pleurotus* é um cogumelo comestível, possuindo coloração clara (branco, cinza ou castanho) com seu basidiocarpo em formato de folha carnuda (FERREIRA, 1998). O gênero *Pleurotus* pertence à família *Agaricaceae* Fr., incluída na ordem *Agaricales*, sendo encontrada em grande parte do mundo; incluindo áreas da mata atlântica brasileira (PUTZKE; WARTCHOW, 2008). A maioria das espécies deste gênero são comestíveis, como: *P. ostreatus* (Jacq.) Quelét, *P. ostreatoroseus* Singer (*Pleurotus djamor*), *P. pulmonarius* (Fr.) Quelét (EIRA; MINHONI, 1997).

Os “cogumelos ostra”, como são conhecidos os *Pleurotus*, são boas fontes de carboidratos, com alto conteúdo de fibras e proteínas, com quase todos os aminoácidos essenciais, minerais e vitaminas (GUNDE-CIMERMAN, 1999), no entanto, este gênero de fungo carece de mais pesquisas que delimitem melhor suas características nutricionais e fisiológicas (SALES-CAMPOS *et al.*, 2011)

Alguns autores diferenciam substrato residual (“SMS”) e composto residual (“SMC”): a primeira denominação é utilizada para o substrato residual que não foi submetido a um processo de compostagem previamente ao cultivo fúngico, a segunda denominação geralmente é utilizada para o composto residual da produção de

cogumelos. No presente trabalho, se denominará SMC como composto residual ou CR da produção de cogumelo.

Cada quilograma de cogumelo produzido gera aproximadamente cinco quilogramas de composto residual (WILLIAMS; McMULLAN; McCAHEY, 2001). Levando-se em conta a produção mundial de cogumelos anual de 8 milhões de toneladas (CHIU *et al.*, 2000), verifica-se a geração de cerca de 40 milhões de toneladas de CR. Estima-se que 70 a 80% deste composto é descartado como lixo (SEMPLE; WATTS; FERMOR, 1998), também causando problemas ambientais, devido ao seu destino inadequado.

Contudo, sua utilização como fertilizante e condicionador de solos, especialmente na floricultura e horticultura, torna-se uma das possibilidades mais viáveis para seu uso (MAHER *et al.*, 2000). Esta implementação tem dado certo (MAHER *et al.*, 2000; CHONG, 2004) por produtores em diversos países, principalmente nos europeus.

A utilização do composto residual como fertilizante possibilita o fornecimento de nutrientes para as plantas e, como condicionador do solo, melhora suas propriedades físicas e químicas, reduzindo a perda de água por infiltração, aumentando a capacidade de retenção de umidade, melhorando a densidade e a aeração Maff (2004 citado por RIBAS, 2009). A adição de composto residual aumenta a quantidade de matéria orgânica, também melhorando a estrutura dos solos (CHANG, 1987; GUO; CHOROVER; FOX, 2001; MAHER *et al.*, 2000). A matéria orgânica, incluindo, composta por lignocelulose parcialmente degradada, quando incorporada no solo, é degradada pelos micro-organismos nativos, resultando em húmus, constituinte fundamental na fertilidade de solos (CHANG, 1987).

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar parâmetros que informassem sobre a viabilidade de utilização de bacia de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) para o cultivo de macromicetos do gênero *Pleurotus* spp., e seu resíduo subsequente, na adubação de solo para o desenvolvimento de alface (*Lactuca sativa* cv. Verônica).

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o desenvolvimento de diferentes cepas de cogumelos, em diferentes frações de bainha de pupunha;
- Verificar os fatores que afetam significativamente o desenvolvimento do fungo selecionado pela fermentação micelial submersa a partir da fração líquida da bainha de pupunha;
- Avaliar o potencial para a cultura de cogumelos comestíveis da bainha de pupunha, submetidos a fermentação em estado sólido, pela técnica *Jun-Cao*, bem como os fatores significativos como quantidade de inóculo e número de furos para o desenvolvimento do *Pleurotus ostreatus*;
- Avaliar o potencial antioxidante, proteico e produtivo em biomassa a partir da água de hidratação do substrato seco (pupunha) residual;
- Utilizar os resíduos (R) da produção de palmito e cogumelos como condicionador do solo na produção de alface (*Lactuca sativa*) cv. Verônica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE DE PLANTA ESTUDADA

2.1.1 Taxonomia e reciclagem de resíduos da colheita

A pupunheira é uma monocotiledônea, pertence à família das *Aricaceae*, podendo atingir até 20 metros de altura. O estipe é praticamente cilíndrico, com o diâmetro variando de 10 a 20 cm, dividido por anéis com espinhos (os entrenós) e anéis sem espinhos (os nós), que são cicatrizes deixadas pela queda das folhas. Em razão do clima e do estágio fisiológico da planta, podem ocorrer entre 15 e 25 folhas, as quais apresentam de 120 a 240 folíolos compridos ao longo da raque e que se agrupam no topo da árvore (CLEMENT, 1992; GUERREIRO, 2002).

A exploração agroindustrial e industrialização do palmito trazem grandes benefícios socioeconômicos, porém, tem como consequência a geração de grandes quantidades de resíduos, resultando em um problema para o meio ambiente e para os responsáveis envolvidos neste processo.

Um hectare de *B. gasipaes* produz cerca de 19,5 t/ano de matéria seca, e a quantidade de palmito bruto extraído é de apenas 1,76 t/ha/ano, ou seja, 9% da biomassa produzida (HERNÁNDEZ & LEON, 1992). Silva *et al.* (2010) cita que pouco tem sido feito na transformação ou aproveitamento destes resíduos, tanto pelo produtores quanto pelas autoridades públicas, constituindo-se em alguns locais um problema ambiental e de saúde pública. Dados médios fornecidos por meio de comunicação pessoal (indústrias de beneficiamento) declaram que, de todo um material (banana, chá e pupunha) processado, depois do beneficiamento, cerca de 70% são resíduos. No caso da pupunha, por exemplo, de uma “haste” de 2600 g, aproximadamente 1820 g são resíduos, e apenas 780 g são efetivamente aproveitados para consumo. Ou seja, uma pequena fábrica que chega a beneficiar em torno de 3000 “cabeças” por dia, gera em torno de 5,5 t dia⁻¹ de resíduo, representando, em um mês de 24 dias úteis, algo em torno de 131 t mês⁻¹.

Devido a sua composição fibrosa (Tabela 1), o resíduo da pupunha apresenta um alto potencial de reaproveitamento para ser incluído como suplemento de fibras na alimentação animal, as quais promovem diversos efeitos benéficos no metabolismo

animal e como substrato para micro-organismos. As dificuldades residem, entre outras, no seu adequado processamento.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E VALOR CALÓRICO DA BAINHA DE PUPUNHA

Constituintes	Fibra da pupunha (g.100g⁻¹)	Desvio padrão (Kcal.100g⁻¹)
Água	3,3	±0,43
Minerais (cinzas)	4,2	±1,52
Proteína	4,7	±2,09
Nitrogênio total	1,5	±0,71
Nitrogênio não-proteico	0,8	±0,52
Lipídeo	0,9	±0,19
Fibra total	63,2	±2,95
Fibra insolúvel	59	±2,51
Fibra solúvel	4,2	±0,55
Carboidrato total	22,3	±4,44
Açúcar solúvel redutor	10,4	±3,66
Açúcar solúvel não-redutor	6,3	±1,44
Amido	5,6	±2,19
Valor calórico	120,4	±11,83

FONTE: Tavares *et al*, 2013.

2.2. FUNGOS

2.2.1 Conceito de fungos e cogumelos

A classificação dos seres vivos proposta por Whittaker, em 1969, é baseada em como obter seus nutrientes, mencionando a existência de 5 reinos: *Monera*, *Protista*, *Plantae*, *Animalia* e *Fungi* (PELCZAR, 1996).

Micro-organismos do reino *Fungi* são organismos eucariotos, uni ou multicelulares, que apresentam parede celular, não apresentando clorofila, absorvendo os nutrientes necessários para seu desenvolvimento do ambiente sobre o qual crescem, dependendo de outros organismos para a sua alimentação, absorvendo nutrientes do

material orgânico no qual residem (PELCZAR, 1996; ALCAMO, 2000). Este reino é subdividido em três principais grupos, de acordo com as características morfológicas do micélio, dos esporos sexuais e dos basidiomas, sendo eles os fungos limosos, os inferiores flagelados e os terrestres (ALCAMO, 2000).

Cogumelos possuem o importante papel de decompositor na natureza, crescendo sobre material orgânico, restos de animais e vegetais, transformando-os em substâncias mais simples, possibilitando a decomposição e utilização de seus compostos pelos vegetais permitindo o desenvolvimento de diversas formas de vida (BONONI *et al.*, 1999).

Os fungos grandes e comestíveis, como o champignon de Paris, e os gêneros *Pleurotus* e *Amanita*, são normalmente chamados de cogumelos, no entanto, a maioria dos fungos é microscópica e pouco conhecida (NOBEL, 1999).

2.2.2 Histórico e aspectos gerais dos cogumelos

Existem cerca de 45000 espécies de cogumelos descritos na literatura internacional, das quais 2000 são normalmente utilizadas na alimentação humana, 46 são cultivadas como alimento e 4500 espécies (10%) são consideradas venenosas, (URBEN, 2004b; BONONI, 1999; URBEN, 2013).

Os maiores produtores e consumidores de cogumelos são os países asiáticos, europeus e norte americanos. A América Latina representa apenas 1,3% do total mundial (TAVEIRA; NOVAES, 2007). No Brasil, apesar de no hábito alimentar não haver o costume por parte da grande maioria da população, sendo restrito a grupos econômicos e culturais mais favorecidos, há uma tendência do aumento na produção e consumo de cogumelos como fonte de nutrientes (DIAS *et al.*, 2003).

Devido ao seu elevado conteúdo nutricional, o cogumelo tem sido apontado como uma alternativa para o aumento de proteínas, carboidratos, minerais e outros; em países em desenvolvimento e com alto índice de desnutrição, o que tornaria a população mais saudável (EIRA *et al.*, 1997).

A produção de cogumelos comestíveis e medicinais vem aumentando e se expandindo em todo o mundo, inclusive no Brasil, utilizando resíduos agroindustriais de natureza lignocelulósica (RIBAS, 2009). O cultivo de cogumelos possibilitaria o desenvolvimento para produtores de pequenas propriedades rurais como uma alternativa

para o reaproveitamento de seus resíduos agroindustriais, aumentando sua renda e geração de emprego, resultando em progresso para a região (URBEN, 2004b).

O aumento da cultura de cogumelos comestíveis depende de avanços científicos na produtividade, controle de qualidade, aproveitamento da matéria orgânica disponível, produção a baixo custo e exportação. Comercialmente, o cogumelo apresenta uma das maiores taxas de retorno por unidade de área, podendo gerar um lucro de até 150% sobre o capital investido ao final do período produtivo. Esta porcentagem pode sofrer variação em função do cogumelo utilizado e da época do ano, em razão dos períodos de safra e entressafra de algumas espécies (MODA, 2003). Sua cultura apresenta crescimento rápido, possibilitando um rápido retorno do investimento (RAJARATHNAM, 1992; POPPE, 2000).

2.3 IMPORTÂNCIA DOS COGUMELOS PARA A BIOTECNOLOGIA

A produção de cogumelos tem crescido mundialmente nas últimas décadas devido as suas crescentes aplicações biotecnológicas (BRAR, DHILLON, SOCCOL, 2013; SOCCOL, PANDEY, LARROCHE, 2013). Estudos indicam diversas aplicações tecnológicas potenciais, que vão desde a produção de cogumelos comestíveis, medicinais, produção de enzimas (lacases, fitases) até a obtenção de substâncias com atividades farmacêuticas, através do cultivo micelial em meios sólidos e líquidos (KARP *et al.*, 2012; NAVEGANTES *et al.*, 2012; SALMON *et al.*, 2012; SPIER *et al.*, 2012).

Bactérias, fungos e leveduras podem crescer em substratos sólidos e são aplicados em processos de Fermentação em estado sólido (FES). Os fungos filamentosos são utilizados na maioria dos casos, devido às suas propriedades fisiológicas, enzimológicas e bioquímicas (SOCCOL, 1994; VANDENBERGHE, SOCCOL, 2003).

2.3.1 Produção de fármacos

Os cogumelos possuem diversas atividades terapêuticas, como anti-hipertensivo, hipoglicêmico, antialérgico, antiviral, antitumoral, antibacteriano, antitrombótico, antifúngico, hipocolesterômico, antiinflamatório, estimulante do crescimento dos neurônios e tônico cardíaco, promovendo a saúde e o bem estar físico e mental (URBEN, 2004b).

De acordo com Embrapa (2009), sua atividade anticancerígena está associada a polissacarídeos existentes na parede celular do basidioma (fruto), que podem estimular a formação de anticorpos que inibem o crescimento de tumores. Segundo Manzi (2000), polissacarídeo mais importante conhecido é a Beta-glucana, que potencializa o sistema imunológico, aumentando as defesas naturais do corpo. Nos cogumelos, ela é constituída por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow3)$ e $\beta(1\rightarrow6)$, além de triterpenos e da proteína Lin-Zhi-8 (URBEN, 2013).

O mecanismo da ação antitumoral ainda não é totalmente conhecido, porém estudos demonstram que esses polissacarídeos estimulam a produção de muitos tipos de células imunes, agindo como imunomoduladores, regulando a resposta imune tanto de maneira positiva quanto negativa (SMITH *et al.*, 2002).

Os fármacos, oriundos dos cogumelos, são utilizados no tratamento de doenças específicas, sendo os mais conhecidos: *L. edodes*, *Trametes versicolor* e o *Schizophyllum commune* (BALAKRISHNAN; NAIR, 1994). Esses remédios podem ser obtidos de produtos de fermentações industriais ou produzidos quimicamente. Os polissacarídeos mais citados são os que apresentam efeitos anti-inflamatórios, anticancerígenos, anti-hipertensivo, hipoglicêmico, anti-AIDS, os que restauram as funções do fígado, entre outros (Tabela 2) (AMAZONAS, 1999).

Estudos com o gênero *Pleurotus* mostram a eficiência na redução do colesterol sanguíneo por serem produtoras potenciais de lovastatina, o melhor agente farmacológico de diminuição do colesterol. A espécie *Pleurotus ostreatus* possui maior concentração desta substância. Os polissacarídeos glucanas, além de combaterem as células cancerígenas, produzem o agente antiviral pleuromutilina, o qual combate infecções virais como a gripe. O extrato de *Pleurotus* também possui atividade antimicrobiana, especialmente contra *Staphylococcus aureus* (BR-BUSINESS, 2009).

Também são fontes de princípios ativos de aplicação em processos biotecnológicos e farmacológicos, incluindo enzimas e aditivos para alimentos (URBEN, 2004b).

TABELA 2 - PRINCIPAIS ALVOS BIOQUÍMICOS NOS ESTUDOS DAS PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS DE COGUMELOS

Composto alvo	Estrutura	Cogumelos	Parte do cogumelo	Terapia
Beta-d-Glucanas	Polissacarídeos de cadeia uniforme (lentinam)	Quase todos	Basidioma, Micélio e Filtrado do micélio	Antitumoral e imunomoduladora
Heteropolissacarídeos	Cadeias de xilose, manose, galactose e ác. Urônico	Quase todos	Basidioma, Micélio e Filtrado do micélio	Antitumoral e imunomoduladora
Glicoproteínas	Polissacarídeos ligados a proteínas	Quase todos	Basidioma, Micélio e Filtrado do micélio	Antitumoral e imunomoduladora
Fibras dietéticas	Elevado peso molecular (quitina, pectinas, hemicelulose, poliuronídeos)	Quase todos	Basidioma, Micélio e Filtrado do micélio	Regulador intestinal
Lecitinas	Ligações de carboidrato-proteína aglutinadoras de células e compostos de elevado peso molecular	Polyporaceas (<i>Grifola frondosa</i>)	Basidioma	Aglutinação de eritrócitos
Terpenóides	Triterpenos (ác. Ganoderico e outros)	Polyporales e ganodermatales (<i>Ganoderma lucidum</i>)	Basidioma, Micélio e Filtrado do micélio	Antitumoral e imunomoduladora
Baixo peso molecular	Lovastatin	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Basidioma	Cardiopatias (anticolesterol)

FONTE: Eira (2003)

2.3.2 Produção de alimentos

Segundo Bononi *et al.* (1999), existem aproximadamente 2000 espécies consideradas comestíveis, sendo que apenas 25 delas são normalmente utilizadas na alimentação humana e menos ainda são comercialmente cultivadas. Dentre os *Agaricales* cultivados para fins alimentares, as quatro espécies mais apreciadas são: *Agaricus brunnescens* (champignon de Paris), *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* e *Volvariella volvaceae* (URBEN, 2004b).

Os cogumelos possuem alto valor em proteínas (Tabela 3), no qual o *Pleurotus sajor-caju* (*Pleurotus pulmonarius*) e o *Pleurotus flabellatus*, apresentam 22,5 e 21,6%, respectivamente. Segundo Chang e Miles (2004) e Mattila *et al.* (2001), os cogumelos contêm vários L-aminoácidos, inclusive os essenciais como a isoleucina, histidina, fenilalanina, lisina, leucina, metionina, triptofano, treonina, valina, riboflavina e folatos.

Segundo Bernás *et al.* (2006), dentre os cogumelos mais comuns com maior quantidade de vitamina do complexo B é o *Boletus edulis* e com menor quantidade é o *Lentinus edodes*.

De acordo com Chang e Miles (1989), os cogumelos apresentam baixas quantidades de lipídeos (Tabela 3), variando de 1,1 a 8,3%. Uma análise nos tipos de ácidos graxos encontrados em Shiitake cultivado na Índia revelou que a quantidade de ácidos graxos insaturados é maior que a de saturados (77,7:22,3) no qual os ácidos palmítico, oleico e linoleico representaram quase o total dos ácidos graxos estudados (LONGVAH, DEOSTHALE, 1998).

São ricos em sais minerais como fósforo, potássio, pequenas quantidades de cálcio, sódio, zinco e ferro; e fibras de baixo valor calórico (30 cal/100 g de cogumelos) (BADO, 1994).

As fibras também estão presentes em quantidades consideráveis (Tabela 3), tanto na forma solúvel (a mais conhecida é o polissacarídeo Beta-glucana, constituída por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow3)$ e $\beta(1\rightarrow6)$ e com ação potencializadora do sistema imunológico) como insolúvel (as principais são a celulose e a lignina) (MANZI, 2000).

Seu uso principal é como alimento *in natura*, porém também se produz o micélio em cultura submersa com o objetivo de obtenção de compostos flavorizantes e aromatizantes de grande valor para a indústria de alimentos, como o *Pleurotus* spp., rico em niacina (Vitamina B3) (FURLANI e GODOY, 2005; MATTILA *et al.*, 2000).

TABELA 3 – COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE ALGUNS COGUMELOS COMESTÍVEIS

Cogumelos	Proteína (Nx4,38) (% peso seco)	Carb. (% peso seco)	Gordura (% peso seco)	Fibra (% peso seco)	Valor energético (% peso seco)
<i>Agaricus bisporus</i>	23,9-34,8	51,3-62,5	1,7-8,0	8,0-10,4	328-381
<i>Auricularia spp.</i>	4,2-7,7	79,9-87,6	0,8-9,7	11,9-19,8	347-384
<i>Flammulina velutipes</i>	17,6	73,1	1,9	3,7	378
<i>Lentinula edodes</i>	13,4-17,5	67,5-78,0	4,9-8,0	7,3-8,0	387-392
<i>Pleurotus ostreatus</i>	10,4-30,4	57,6-81,8	1,6-2,2	7,5-8,7	345-467
<i>Volvariella volvacea</i>	21,3-43,0	50,9-60,0	0,7-6,4	4,4-13,4	254-374

FONTE: Amazonas (1999)

2.3.3 Produção de enzimas

Segundo Urben (2013) os cogumelos se destacam pela sua capacidade de biodegradar resíduos naturais, produzindo principalmente celulases (coadjuvante na extração de óleos vegetais; preparação de frutas e verduras desidratadas; produção de ágar-ágar de algas marinhas; recuperação de amido e gomas de resíduos fibrosos; pré-processamento de alho para prevenir a gelificação; remoção de resíduos fibrosos, dissolução de paredes celulares para consumo alimentar e como auxiliar digestivo em ração e alimentos vegetais), lignases (Ligninas peroxidases desempenham papel fundamental no ciclo do carbono, pela decomposição de resíduos vegetais), celobíases, lacases (fenol oxidases), hemicelulases, manganês peroxidase e fitases (SALMON *et al.*, 2012; SPIER *et al.*, 2012; BONONI *et al.*, 1991; CAPELARI, 1996; EICHLEROVÁ *et al.*, 2000; DALIMOVA & AKHMEDOV, 2001; ROSADO *et al.*, 2002; BONATTI *et al.*, 2004; KOMURA, 2009).

2.4 SITUAÇÃO ATUAL E PERSPECTIVAS FUTURAS PARA O MERCADO BRASILEIRO DE COGUMELOS

De acordo com Urben (2004b), a perspectiva esperada para a indústria de cogumelos se tornem uma das principais atividades rurais é muito significativa devido as seguintes vantagens:

- Grande utilização de recursos biológicos; curto ciclo de reprodução;
- Retorno de investimento rápido;
- Utilização de pequenas áreas para o cultivo com alta eficiência produtiva;
- Aproveitamento para o desenvolvimento de outras atividades agrícolas, como fertilização orgânica para diversas atividades rurais e alimentação de animais.

Segundo Souza (2011), a produção de cogumelos no Brasil está em torno 12050 t/ano de cogumelos *in natura* (Tabela 4)

TABELA 4 - PRODUÇÃO NACIONAL DE COGUMELOS COMESTÍVEIS EM 2011

Espécie	Toneladas (t)/ano
<i>Agaricus bisporus</i>	8000
<i>Pleurotus ostreatus</i>	2000
<i>Lentinula edodes</i>	1500
<i>Agaricus blazei</i>	500
Outras espécies	50

FONTE: Souza (2011)

Mesmo com a produção anual de 12050 t/ano o Brasil necessita importar, desde 1995, 12000 t/ano de *Agaricus bisporus* cozidos, para conseguir suprir uma exigência do mercado, o que demonstra que o consumo do brasileiro é superior a sua produção, alcançando 24050 t/ano, o que indica um aumento de mais de 400% por indivíduo em 30 anos (SOUZA, 2011).

2.5 FATORES QUE ACARRETAM ALTERAÇÕES NA PRODUÇÃO DE COGUMELOS

A sobrevivência e multiplicação dos microrganismos estão relacionadas com uma série de fatores que podem agir isoladamente ou terem efeitos interativos entre eles. Consideram-se como fatores nutricionais, ou seja, os que estão ligados ao alimento (fatores intrínsecos) a composição química, a atividade da água (A_w), a acidez (pH), o potencial de oxirredução, a presença de antimicrobianos e as interações entre microrganismos presentes nos alimentos. Dentre os principais fatores ambientais (fatores extrínsecos) são a temperatura, a umidade e a composição química do ar que envolve o alimento, como por exemplo, concentração de CO_2 (EIRA, 2003).

2.5.1 Fatores Nutricionais (Fatores intrínsecos)

2.5.1.1 Nutrição

De maneira geral, os *Pleurotus* spp. são saprófitos, ou seja, extraem seus nutrientes do substrato (gramíneas, madeira e resíduos agrícolas) através do micélio tendo como substâncias necessárias para o seu desenvolvimento: carbono, nitrogênio, vitaminas e minerais (URBEN, 2004b).

De acordo com Silva *et al.* (2007b), o crescimento e desenvolvimento do fungo, tanto pela qualidade quanto pela quantidade (produtividade e eficiência biológica), estão intimamente ligados ao tipo de nutriente e as condições físico-químicas externas, correlacionando o valor nutricional do *Pleurotus* spp. com o tipo de substrato e as condições de cultivo empregadas.

O substrato tem influência direta na composição de minerais, devido as hifas dos fungos ficarem em contato com o composto e dele retirarem seus elementos essenciais, podendo também acumular metais tóxicos como chumbo, mercúrio e arsênio (MOURA, 2008).

A biotina e a tiamina, são vitaminas recomendadas para serem incorporadas ao substrato (CHANG; MILES, 2004).

2.5.1.2 Relação carbono x nitrogênio (C/N)

Os cogumelos precisam que haja um equilíbrio no substrato quanto a relação carbono e nitrogênio. A relação C/N (28% de carbono e 1% de nitrogênio) é a condição importante para a produção de cogumelos, no entanto, se mais nitrogênio for utilizado do que de carbono, haverá um super crescimento do micélio com inibição dos basidiomas (URBEN, 2004a).

Chang e Miles (2004) ainda apresentam o estímulo do *Pleurotus* na presença de glicose, galactose, manose e frutose; e diminuição de crescimento na presença de arabinose e xilose. No período de desenvolvimento do micélio, há um aumento de monossacarídeos redutores, havendo seu decréscimo após a frutificação. Bano e Rajarathnam (1988) explicam que o decréscimo dos valores de açúcares redutores está associado com a utilização para fonte de energia na produção de basidiomas.

2.5.1.3 Valor do pH (potencial hidrogênionico)

Cada cogumelo tem sua faixa ideal de pH para o seu desenvolvimento, podendo variar, por exemplo, o pH entre 4,0 e 7,0 para o micélio e 3,5 a 5,0 para a formação do basidioma (URBEN, 2004a).

O pH ideal para o desenvolvimento micelial é compreendido pela faixa de 6,5 a 7,0. Com a colonização fúngica, o pH do substrato é reduzido a valores próximos a 4,0 pela redução de ácidos orgânicos, principalmente o ácido oxálico, na etapa que antecede o corte para frutificação (RAJARATHNAM *et al*, 1992).

2.5.1.4 Fontes de nitrogênio

Chang e Miles (2004) relatam a importância do nitrogênio na síntese das proteínas, purinas, pirimidinas, e polissacarídeos constituintes da parede celular de muitos fungos, podendo ser adicionados na forma de nitrato, de amônia ou nitrogênio orgânico.

Segundo Kurtzman (1978), Macaya-Lizano (1988) e Bisaria *et al.* (1989), o *Pleurotus* é um gênero essencialmente celulolítico, porém, Ortega *et al.* (1992), em seus estudos com *Pleurotus* spp. em bagaço de cana suplementado, descreveram um aumento de nitrogênio nos cogumelos em relação a quantidade presente no substrato inicial somada à quantidade de nitrogênio presente no inóculo, indicando uma possível fixação deste elemento pelos cogumelos.

Lima, Aquarone e Borzani (1975) citam que tanto compostos orgânicos ou inorgânicos como cloreto de amônio, sulfato de amônio, fosfato de amônio dibásico, nitrato de amônio, nitrato de sódio, nitrato de potássio, acetato de amônio, tartarato de amônio, ureia, proteínas hidrolisadas, aminoácidos, água de maceração de milho e extrato de levedura, tendo sido adicionadas ao meio de cultura em concentrações de nitrogênio, que variam entre 0,012 a 0,11%, podem ser utilizados como fonte de nitrogênio para os cogumelos.

Sturion & Oetterer (1995) também verificaram o aumento de nitrogênio no substrato residual, que variou de 4 a 37% no cultivo de *Pleurotus* spp. em diferentes substratos, sugerindo a possibilidade desse gênero em fixar nitrogênio, ou então a presença de bactérias fixadoras associadas ao cogumelo. Entretanto, a presença do micélio do cogumelo no substrato pode ter contribuído para este valor, devido a parede celular fúngica possuir em sua estrutura, a quitina (polissacarídeo), interferindo na análise por superestimar a quantidade de nitrogênio no substrato residual.

2.5.1.5 Minerais

A quantidade de minerais em cogumelos está diretamente relacionada a fatores como espécie, área de cultivo, tempo de crescimento do basidioma e distância de fontes poluidoras (GENÇCELEP *et al.*, 2009).

Minerais como fósforo, magnésio, enxofre, cálcio, ferro, potássio, cobre, zinco, manganês e cobalto, bem como as vitaminas, são utilizados em meios de cultura. Alguns cogumelos como, por exemplo, o *Coprinus comatus*, não se desenvolvem na ausência de vitaminas. Essa adição quando em excesso, pode resultar em sabor indesejável ao alimento (LIMA; AQUARONE; BORZANI, 1975).

Os íons de enxofre, fósforo, potássio e magnésio estimulam o desenvolvimento do *Pleurotus*. Os cátions de cálcio, zinco, manganês, ferro, cobre e molibdênio são

elementos traços que podem suplementar o substrato para esses cogumelos (CHANG; MILES, 2004).

Minerais como cádmio e chumbo podem ser absorvidos em espécies bioacumuladoras destes minerais ou quando os cogumelos se desenvolvem em áreas poluídas (KALAC, 2009; STURION e RANZANI, 2000).

2.5.1.6 Aeração e Agitação

Segundo Raimbault & Alazard (1980 citado por MACIEL, 2006), o controle do ambiente gasoso na fermentação em estado sólido aeróbica é um importante fator no desenvolvimento de microrganismos, dependente da velocidade do fluxo de oxigênio pelo substrato e da rapidez de consumo de O_2 pelos microrganismos. A aeração possui diferentes funções, sendo elas a provisão de O_2 para o crescimento aeróbio e metabolismo; a regulação da umidade; a regulação da temperatura; a eliminação de vapor d'água, CO_2 e alguns metabólitos voláteis.

Espera-se que o nível de O_2 necessário para a fermentação em estado sólido seja menor do que na fermentação micelial submersa. Contudo, segundo Lonsane *et al.* (1991), o problema com a difusão de O_2 , na fermentação em estado sólido, resume-se à transferência do gás entre as partículas. Uma ideal situação para o crescimento seria a capacidade de um microrganismo conseguir O_2 diretamente da atmosfera gasosa (RAMANA MURTHY *et al.*, 1993). No entanto, qualquer que seja a forma de transporte de O_2 , verifica-se que a velocidade de transferência na fermentação em estado sólido é maior que na fermentação micelial submersa (LONSANE *et al.*, 1991).

2.5.1.7 Tamanho da partícula

Uma propriedade desejável para as fermentações sólidas, é que elas possuam pequenas partículas para obter-se de uma maior área superficial utilizada pelo microrganismo. Contudo, partículas muito pequenas resultam em um substrato compactado, interferindo na aeração do sistema, e na utilização do oxigênio pelos microrganismos. Por outro lado, partículas com maior tamanho ocasionam um aumento

do espaço interpartículas, melhorando os processos relacionados à transferência do oxigênio, porém, limitando a área superficial das partículas, onde ocorrem os processos de transferência de massa (nutrientes e umidade), necessários para o microrganismo (PANDEY; SOCCOL; MITCHELL, 2000).

2.5.2 Fatores Ambientais (Fatores extrínsecos)

2.5.2.1 Umidade

A água é um dos principais fatores que influenciam no sucesso do crescimento de cogumelos (DEL BIANCHI *et al.*, 2001). O alto teor de umidade no substrato resultará em problemas na respiração do micélio, inibindo a transpiração, impossibilitando o desenvolvimento do basidioma, resultando no desenvolvimento de organismos não-desejados, como bactérias e nematóides (URBEN, 2004a). O teor de umidade baixo resultará na morte dos basidiomas. Para a maioria dos fungos, a faixa ampla de umidade é de 20 a 70 % (PANDEY *et al.*, 2001), porém, segundo Urban (2004b), o ideal para a maioria dos cogumelos é umidade entre 80-90%.

Segundo Chang e Miles (2004), a umidade adequada no substrato deve compreender a faixa de 50 a 75% e de 85 a 95% de umidade no ambiente, possibilitando um crescimento satisfatório do *Pleurotus* spp.

Água contaminada com metais pesados como mercúrio, chumbo e cobre, pode acarretar sabor indesejável ao produto e ser fonte de contaminação humana.

2.5.2.2 Temperatura

Altas temperaturas podem diminuir o desenvolvimento dos cogumelos por não compreenderem suas faixas ideais de crescimento, permitindo também o desenvolvimento de micro-organismos competitivos que melhor se adaptam a elevadas temperaturas. Observa-se que diferentes estágios de desenvolvimento dos cogumelos, apresentam diferentes temperaturas (Tabela 5) (URBEN, 2004b).

TABELA 5 - AMPLITUDES DE TEMPERATURA (°C) PARA REALIZAR/OTIMIZAR O DESENVOLVIMENTO MICELIAL (TDM E TDM ÓTIMO) E A FRUTIFICAÇÃO (TFRUTIFICAÇÃO) PARA ESPÉCIES DIFERENTES DE COGUMELOS, COM SUAS TÉCNICAS APROPRIADAS PARA A PREPARAÇÃO DO SUBSTRATO

Espécie de cogumelo/Nome comum	Tdm (°C)	Tdm ótimo (°C)	Tfrutificação (°C)	Técnicas
<i>Lentinula edodes</i> /Shitake	5-35	20-30	8-25	1,2,3
<i>Pleurotus abalonus</i> /cogumelo gigante, hiratake	15-35	20-30	25-30	2,3
<i>Pleurotus cystidiosus</i> / cogumelo gigante, hiratake	10-35	25-28	25-29	2,3
<i>Pleurotus ostreatus</i> /cogumelo ostra, shimeji	5-35	20-25	5-25	2,3
<i>Pleurotus pulmonaris</i>	5-35	20-25	13-20	2,3
<i>Pleurotus cornucopiae</i> / cogumelo trombeta	15-35	20-28	15-25	2,3
<i>Pleurotus djamor</i>	15-35	24-30	20-30	2,3
<i>Pleurotus eyngii</i> /cogumelo-rei	10-35	20-25	15-22	2,3
<i>Auricularia polytricha</i> /orelha de pau	20-35	35-30	23-28	2,3

Técnicas para preparação do substrato: 1 - lenhos de madeira, 2 - substrato pasteurizado ou pré-aquecido, 3 - substrato esterilizado

FONTE: Oei; Nieuwenhuijzen (2006)

2.5.2.3 Luminosidade

Existem espécies que se desenvolvem na ausência de luz e outra com luz parcial. Em geral, o fotoperíodo deve ser suficiente para a leitura de uma folha de papel (1500 a 2000 lux.hora⁻¹/12 horas ao dia) em temperatura compatível com o cogumelo. Ambientes que apresentam muita luz podem ocasionar palidez, deformações e estipe alongado do cogumelo (URBEN, 2004a; BONONI *et al.*, 1991). Eira e Bueno (2005) relatam que a coloração branca e brilhante do chapéu (píleo) do *Pleurotus* spp. pode ser alterada para escura e opaca, na presença de luz, devida liberação de fenoloxidasas que oxidam fenóis, formando melanoidinas.

2.5.2.4 Ar ambiente

Os cogumelos são aeróbios, ou seja, necessitam de oxigênio para sua sobrevivência e desenvolvimento. Uma vez que o ar contenha teores de CO₂ elevados, haverá a produção de cogumelos com estipe grosso e píleo pequeno (URBEN, 2004a).

2.6 TÉCNICAS DE CULTIVO

As trocas gasosas dos substratos, durante o crescimento vegetativo, são bastante importantes para a produção de celulases, hemicelulases e ligninas (ROSSI *et al.*, 2001).

No Brasil, o cultivo de cogumelos tem sido realizado em toras, em serragens, em composto oriundo de húmus (champignon) e pela técnica *Jun-Cao*.

2.6.1 Técnica *Jun-Cao*

Segundo Dias e Gontijo (2000), a *Jun-Cao* (*Jun* = cogumelo e *Cao* = gramínea), é uma das técnicas mais utilizadas para a produção de cogumelos, utilizando gramíneas no lugar de toras de árvores nativas, reduzindo o processo de desmatamento, passando a ser também um fator importante no controle de erosão do solo. Essa técnica foi adaptada para utilização de resíduos agroindustriais, o que possibilita maior cultivo para várias espécies de cogumelos, resultando em maiores benefícios à preservação do meio ambiente, diminuindo o custo da produção e resultando no aumento do mercado consumidor (CASTRO, 2006).

Os cogumelos precisam de equilíbrio no substrato quanto a relação carbono e nitrogênio no qual C/N (28% de carbono e 1% de nitrogênio) é a condição adequada para a produção de cogumelos, no entanto, se mais fontes de nitrogênio forem utilizadas do que de carbono, haverá um alto crescimento do micélio com inibição dos basidiomas (URBEN, 2004b).

As etapas de laboratório para produção de cogumelos comestíveis em substratos

naturais envolvem a obtenção de linhagens e produção do inoculante, relacionadas com as etapas de cultivo que vão desde a inoculação até o beneficiamento (EIRA; MINHONI, 1997; MARINO, 1997).

O meio de cultura, em estado sólido, utilizado para avaliação do crescimento de fungos, é considerado adequado devido aos fungos desenvolverem-se, de forma comum na natureza, em substratos sólidos, como resíduos vegetais e animais ou no solo (BONONI *et al.*, 1999). Capelari (1996) observou que a taxa de crescimento micelial em um substrato sólido dependeu de fatores ambientais e específicos da linhagem. Em seu metabolismo, o fungo secreta exoenzimas degradando compostos para obtenção de nitrogênio, enxofre, carbono, e outros nutrientes (DONINI *et al.*, 2006).

Em relação aos meios de cultivo, devido à grande diversidade, conhecer o substrato mais adequado para uma determinada linhagem de um fungo é um modo para o aumento de produção. Silva *et al.* (2005), relatam que o crescimento do micélio influencia na produção de cogumelos e na taxa de formação de primórdios, como também está diretamente relacionado com a biomassa micelial que é formada durante o crescimento fúngico (SALES-CAMPOS; ANDRADE, 2010).

2.6.2 Vantagens do cultivo de cogumelos pela técnica Jun-Cao

A técnica *Jun-Cao* apresenta algumas vantagens em relação as demais técnicas (serragem, tora), como:

- Recursos agrícolas naturais abundantes e inexplorados. As gramíneas apresentam um ciclo vegetativo curto, com desenvolvimento rápido, sendo muito produtivas e podendo ser colhidas diversas vezes ao ano.
- Taxa de conversão biológica para o cultivo de cogumelos é 10 a 20% maior com a *Jun-Cao* do que com a serragem, com redução de 20% de custo.
- Curto período de cultivo: o período completo de desenvolvimento do cogumelo é mais curto que em relação ao cultivo com outras técnicas, como serragem e toras.
- Praticidade e facilidade de apropriação: a técnica pode ser utilizada em pequena ou grande escala de produção, apresentando fácil domínio com poucos recursos.

Além das vantagens citadas, Lin *et al.* (1997) observaram que cogumelos cultivados por esta técnica, apresentam alta qualidade em relação aos aspectos

nutricionais. Observa-se que os cogumelos cultivados por essa técnica, apresentam maior valor nutricional do que aqueles cultivados em toras e serragens (Tabela 6). Seus valores para proteína, nitrogênio, gordura, fósforo, potássio e magnésio, quando utilizada a *Jun-Cao*, são maiores do que aqueles em serragem.

TABELA 6 - COMPARAÇÃO DO CONTEÚDO DE NUTRIENTES EM DIFERENTES TÉCNICAS DE CULTIVO

%	<i>L. edodes</i>			<i>A. polytricha</i>			<i>A. auricula</i>		
	<i>Jun-Cao</i>	Serragem	Tora	<i>Jun-Cao</i>	Serragem	Tora	<i>Jun-Cao</i>	Serragem	Tora
Ptn	32,84	28,79	19,65	8,212	7,997	7,376	17,83	9,861	-
Fib.	20,40	17,12	29,81	27,75	19,61	39,80	21,33	13,66	-
Lip.	2,31	2,61	1,710	1,400	0,800	1,200	0,870	0,470	-
Ciz.	9,42	8,02	9,550	9,550	9,620	9,710	9,570	9,480	-
N	5,25	4,61	3,145	1,314	1,280	1,180	2,853	1,578	-
P	0,95	0,86	0,378	0,228	0,195	0,190	0,356	0,36	-
K	1,944	1,45	1,372	1,066	0,829	0,696	1,562	1,690	-
Ca	0,01	0,03	0,023	0,108	0,099	0,249	0,141	0,176	-
Mg	0,14	0,13	0,137	0,15	0,133	0,136	0,128	0,177	-
Cu	15,79	7,10	9,450	2,84	6,720	2,370	2,100	8,680	-
Zn	119,6	74,66	133,2	36,01	39,99	56,96	46,07	69,94	-
Mn	26,88	13,45	16,25	19,43	26,84	26,52	18,75	56,29	-
Fe	101,95	75,12	78,60	98,05	136,37	2480,6	42,09	100,99	-

FONTE: Urben (2004b)

2.7 *Pleurotus* spp.

A cultura do *Pleurotus* está sendo difundida em vários países do mundo, ganhando popularidade na Europa, na América e Extremo Oriente (LOSS, 2009).

Nos últimos anos, as espécies do gênero *Pleurotus* vêm ganhando espaço nas prateleiras dos mercados, por apresentarem cores e aromas diferenciados, como o shimeji, o *Pleurotus* Salmon e *Pleurotus* Branco, conhecidos no exterior como “oyster mushrooms”, por terem seu aspecto parecido com o de uma ostra (FURLANI e GODOY, 2005).

A taxonomia do gênero *Pleurotus* foi baseada na morfologia e na afinidade das espécies até as últimas décadas. Segundo Bano (1988) Rajarathnam (1988) e Chang; Miles (2004), o *Pleurotus* possui a seguinte classificação taxonômica:

Reino: *Fungi*

Divisão: *Eumycota*

Subdivisão: *Basidiomycotina*

Classe *Basidiomycetes*

Ordem *Agaricales*

Família: *Trichlomataceae*

Gênero: *Pleurotus*

As espécies de *Pleurotus* possuem uma grande variedade de cores como rosa (ou salmão), marrom, azul claro e branco, variando de acordo com a espécie, assim como suas necessidades nutricionais, incidência de luz durante a frutificação, e tempo de incubação. Neste gênero encontram-se muitas espécies comestíveis como *Pleurotus ostreatus* (*shimeji*), *P. pulmonarius* (*P. sajor-caju*), *P. oeus*, *P. eryngii*, *P. djamor* (*P. salmoneostramineus*), *P. citrinopileatus*, entre outros (EIRA; MINHONI, 1997), se desenvolvendo em temperaturas de 15 a 28 °C (MARINO, 1997).

O gênero *Pleurotus* é amplamente distribuído na natureza, tendo boa adaptação ao clima tropical e subtropical, com maior capacidade ligninolítica que outros cogumelos comestíveis cultivados (RAJARATHNAM *et al.*, 1992; BUSWELL *et al.*, 1996). Estão incluídos dentro do grupo causador da podridão branca devido a degradação da lignina da madeira (ROSADO *et al.*, 2002; BONATTI *et al.*, 2004). Estes cogumelos crescem em substratos nutricionalmente pobres e apresentam bom desenvolvimento em condições rústicas (SCHMIDT *et al.*, 2003). No cultivo de *Pleurotus*, utiliza-se uma grande variedade de resíduos agrícolas, como palhas, gramíneas, serragens, cascas de coco, sabugo de milho, bagaço de cana-de-açúcar, entre outros de natureza orgânica (SALAS, 2005; DONINI *et al.*, 2006).

Estes fungos, por possuírem enzimas celulase, ligninase, celobiase, lacase e hemicelulase, degradam uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos e resíduos orgânicos; desempenhando importante papel no ciclo do carbono (BONONI *et al.*, 1991; CAPELARI, 1996; EICHLEROVÁ *et al.*, 2000; DALIMOVA & AKHMEDOV, 2001; ROSADO *et al.*, 2002; BONATTI *et al.*, 2004), com ciclo relativamente curto em comparação com outros gêneros de cogumelos comestíveis e também por ser possível o

seu cultivo em ambiente rústico de produção. Este aparato enzimático lhe permite converter compostos agrícolas de valor econômico baixo, em produtos alimentícios de grande teor proteico. A degradação da lignina, em especial, possibilita a liberação de substâncias húmicas, as quais agem na estruturação do solo ou como agentes quelantes (SCHMIDT *et al.*, 2003).

O ótimo crescimento do micélio ocorre em média a 25 °C, com pH do meio entre 5,5 e 6,5, havendo um rápido ciclo de produção, de aproximadamente 30 dias desde o início de seu crescimento vegetativo até a primeira colheita, com um total de três ou quatro ciclos de produção (STAMETS, 2000). O substrato não precisa ser compostado, o que facilita o seu cultivo.

Outro aspecto importante é poderem apresentar até o triplo da produtividade se comparado com o gênero *Agaricus*, contribuindo, para isso, a sua rusticidade e resistência a doenças (COLAUTO *et al.*, 1998).

O cogumelo *Pleurotus* tem sido muito estudado em diversas partes do mundo pelo seu valor gastronômico, de sabor suave e fácil aceitação pelo consumidor brasileiro (DIAS, 2013), pela sua habilidade em colonizar e degradar uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos, (BONATTI *et al.*, 2004; EIRA, 2000) e pelo seu fácil manejo (CONDÉ, 2013).

2.8 FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA (FMS) E EM ESTADO SÓLIDO (FES)

2.8.1 Fermentação micelial submersa (FMS)

A principal diferença entre fermentação em estado sólido (FES) e a fermentação micelial submersa (FMS) é a capacidade de mistura dos sistemas (GERVAIS; MOLIN, 2003). Nas fermentações submersas as reações de mistura são perfeitas, na qual, cada parte do reator contém, ao mesmo tempo, a mesma quantidade de microrganismos, nutrientes e metabólitos. Nas fermentações de cultivo em meio sólido, os meios são mais heterogêneos, em termos de população microbiana e concentração de soluto. Segundo Ramana Murthy *et al.* (1993) a diferença entre os dois bioprocessos é que na fermentação em estado sólido, o substrato sólido úmido é insolúvel em água, porém não necessariamente, conforme Durant (1988 apud DEL BIANCHI *et al.*, 2001), e não se

encontra suspenso no líquido; ao contrário da fermentação micelial submersa, no qual se utilizam substratos sólidos dissolvidos ou submersos no líquido.

O cultivo de cogumelos pela fermentação micelial submersa foi estudado por Gomez (1990), utilizando bagaço de cana e levedura de destilaria como substrato para o desenvolvimento do micélio de *Pleurotus ostreatus*, resultando em um produto final rico em proteínas e carboidratos e com boa digestibilidade, baseado nos baixos teores finais de lignina encontrados. O micélio obtido pode ser utilizado diretamente como alimento devido ao seu conteúdo proteico ou como aditivo em alimentos processados.

Alguns trabalhos utilizaram diferentes fontes de carbono, como a frutose, a celobiose, a maltose, a xilose, dentre outros, no qual observou-se que a produção de biomassa e de exopolissacarídeos foram diferentes, além da composição monossacarídica (KHONDKAR *et al.*, 2002; KIM *et al.*, 2002).

Apesar de haverem muitas condições de controle no cultivo submerso de basidiomicetos, esta técnica apresenta vantagens quando comparada a obtenção do basidioma, pois os polímeros podem ser obtidos em um curto espaço de tempo, e as condições nutricionais e ambientais podem ser controladas, adequando-se às características de cada espécie.

O gênero *Pleurotus* vêm sendo cultivado em meio líquido (cultivo submerso), no qual a espécie *Pleurotus ostreatus* é uma das mais estudadas em termos de obtenção de biomassa micelial e exopolissacarídeos (GUTIÉRREZ *et al.*, 1996, ROSADO *et al.*, 2003a, GERN *et al.*, 2008).

2.8.2 Fermentação em estado sólido (FES)

O termo fermentação em estado sólido, tradução do inglês “solid state culture” ou “solid state fermentation” é definido, por Moo-Young *et al.* (1983), como um processo onde os micro-organismos utilizam materiais insolúveis para o seu crescimento e metabolismo. Mudgett (1986 apud SOCCOL, 1994) descreve como a fermentação na qual o desenvolvimento de microrganismos em substratos sólidos ocorre na ausência de qualquer líquido em sua forma livre. A água livre, fundamental para o crescimento microbiano, é adsorvida em um suporte sólido ou é complexada no interior de uma matriz sólida.

O material sólido, utilizado na fermentação no estado sólido, geralmente é

fragmentado, possuindo natureza fibrosa, permitindo a retenção de água por higroscopia ou capilaridade. A quantidade de água utilizada para esta fermentação varia enormemente, de acordo com o substrato utilizado. Substratos amiláceos como o arroz, o trigo, o centeio, a cevada, o milho e a mandioca, são comumente fermentados entre 25 e 60% de umidade inicial; já os substratos celulósicos como palhas, cascas, bagaço e farelo; possibilitam a fermentação em teores de umidade mais elevados, em torno de 60 a 80% sem o aparecimento de água livre (SOCCOL, 1994).

De acordo com Durant (1988 apud DEL BIANCHI *et al.*, 2001) o substrato não necessita ser insolúvel em água para ser sólido, definindo-se como:

“Processos que referem-se a cultura de micro-organismos sobre ou dentro de partículas em matriz sólida (substrato ou material inerte) onde o conteúdo de líquido (substrato ou meio umidificante) ligado a ela está a um nível de atividade de água que, por um lado, assegure o crescimento e metabolismo das células e, por outro, não exceda à máxima capacidade de ligação da água com a matriz sólida.”

Del Bianchi *et al.* (2001) ainda explica que o termo “fermentação em superfície” está relacionado ao processo no qual há crescimento microbiano sobre a superfície líquida estática do substrato, não sendo correto se referir fermentação em superfície a fermentação em estado sólido. A cultura em meio sólido ou semi-sólido em ágar, comum em microbiologia, na seleção e manutenção, não se enquadra como fermentação em estado sólido.

2.8.2.1 Vantagens da fermentação em estado sólido (FES)

Abaixo, são apresentadas algumas das vantagens operacionais da fermentação em estado sólido (FES), segundo Del Bianchi *et al.* (2001), em relação ao processo submerso:

- Maior rapidez na taxa de reação por haver maior contato direto entre o substrato e o micro-organismo;
- Eliminação de algumas etapas do pré-tratamento do substrato, como, por

exemplo, a extração;

- Utilização de um substrato simples, havendo a necessidade apenas da adição de água em muitos casos;
- Menor quantidade de água utilizada, diminuindo conseqüentemente energia e em muitas vezes espaço utilizado;
- Quase sempre, a aeração para acesso de O₂ aos micro-organismos é natural ou forçada; não havendo a necessidade de agitação contínua;
- A baixa quantidade de umidade utilizada e a alta concentração de inóculo adicionado ao meio diminuem, e em muitas vezes, eliminam o problema de contaminação por outros micro-organismos;
- As condições de crescimento utilizadas são parecidas com as naturais dos fungos filamentosos, obtendo-se maiores rendimentos;
- Menor produção de resíduos líquidos que necessitam serem tratados;
- Em muitos casos, obtêm-se rendimentos maiores do que comparados com a fermentação submersa.

2.8.2.2 Desvantagens da fermentação em estado sólido (FES)

Abaixo, são apresentadas algumas das desvantagens operacionais da fermentação em estado sólido, segundo Del Bianchi *et al.* (2001), em relação ao processo submerso:

- Se for necessária a ampliação da escala do sistema, poderá haver o problema de dissipação ou acúmulo de calor e gases formados; e monitoramento e controle do processo, devido a heterogeneidade do substrato;
- Caso haja a necessidade de aeração, a energia utilizada será muito maior que em relação a fermentação submersa;
- Difícil coleta de amostras representativas para o processo por não haver homogeneidade da massa na fermentação

2.9 CULTIVO DE *Pleurotus* spp. PELA TÉCNICA JUN-CAO EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO (FES)

2.9.1 Preparo da matriz (cultura de tecido)

A produção da matriz inicia-se pelo isolamento do fungo. Escolhe-se um cogumelo de boa aparência, saudável e com as características peculiares da espécie em questão. Rasga-se o cogumelo no seu chapéu e retira-se um pequeno fragmento da parte interna colocando-o em uma placa de Petri, com meio de cultura (ex: Batata Dextrose Agar) para formar a matriz primária. Toda a operação deve ser feita em ambiente asséptico para evitar contaminação.

2.9.2 Produção de inóculo (semente ou “spawn”)

Para produção de “spawn” ou semente, coloca-se um substrato amiláceo, como por exemplo o grão de trigo, em um pacote de polipropileno, umedecendo-o até aproximadamente 50% do seu peso seco (umidade superior propicia bactérias que causam a “mancha úmida” na parte inferior do “spawn”, não possibilitando o crescimento do fungo desejado), deixando absorver umidade por 4 horas, tampando o pacote com algodão ou espuma (possibilitando ambiente asséptico e aeróbio após autoclavagem) levando-o, em seguida, para autoclave a 121 °C por no mínimo 30-60 minutos. Ao se resfriar, transferir um pedaço do micélio (0,5 a 5% do peso úmido do pacote) presente na placa de Petri para o saco com trigo. Levar o pacote para um ambiente escuro, com temperatura em torno de 22-25 °C, em média (podendo variar para determinadas espécies de cogumelos) e umidade por volta de 70% até o fungo colonizar todo o grão (completa miceliação). O aumento ou queda excessiva de temperatura pode retardar o crescimento do fungo.

Os substratos normalmente utilizados na produção dos inoculantes são grãos de cereais, como trigo, sorgo, milho e aveia (BONONI et al., 1999). Segundo Eira *et al.* (1997), a produção de grãos colonizados ou “spawn”, proporcionam as seguintes vantagens:

- Adaptação da matriz primária ao substrato “grãos” contribuindo para a redução do período de colonização desse substrato;
- Redução no nível de contaminações dos grãos colonizados;
- Aumento de rendimento na produção de grãos colonizados, pois com uma placa de Petri (matriz primária) consegue-se inocular cerca de 10 frascos de 500 mL com substrato para matriz secundária e com um frasco de matriz secundária, consegue-se inocular cerca de 40 frascos ou sacos de polipropileno (PP) ou polietileno de alta densidade (PEAD) para produção de grãos colonizados;
- Maior facilidade durante o processo de inoculação, com fins de produção de grãos colonizados pelo fungo.

2.9.3 Escolha do Substrato

Segundo Urben (2004b), os substratos lignocelulósicos utilizados para o cultivo de *Pleurotus* spp., podem ser:

Andropogon	Milho
Bagaço de cana	Palha de arroz
Brachiaria	Palha de trigo
Capim elefante	Polpa de café
Cost cross	Pseudo-caule e folha de bananeira
Fava Dantas	Pupunha
Folhas de chá	Resíduo de algodão
Jaborandi	Sabugo de milho
Madeira	Serragem

Eira (2000) cita 3 grupos de substratos nos quais os cogumelos podem ser cultivados em condições naturais não assépticas:

- Substratos *in natura* com relação C:N maior que 100:1, tais como troncos de madeira sem qualquer preparação prévia;
- Resíduos agroindustriais com relação C:N entre 50 e 100:1, tais como palhas pré-tratadas por compostagem curta e pasteurização severa ou apenas pasteurização severa;
- Palhas e resíduos agroindustriais com relação C:N entre 25 e 50:1, com prévia compostagem, pasteurização e condicionamento, sendo que após o

condicionamento a relação C:N estreita-se para 16 a 17:1.

De acordo com Eira (2000), o substrato que apresenta uma relação C:N entre 15 e 25:1 pode ser utilizado com algumas vantagens pelo meio de cultura, a qual possui estreita relação C:N, conduzindo a uma elevada produtividade, atendendo aos custos do processo de esterilização e assepsia e à demanda do mercado (Tabela 7).

TABELA 7 - EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) PARA ALGUNS TIPOS DE SUBSTRATOS UTILIZANDO *Pleurotus* spp.

Formulações	EB (%)
Palha de trigo/cal (1%)	177,41
Polpa de café fresca	159,68
Polpa de café seca armazenada por 24 meses	145,27
Palha de melão-de-São-Caetano	139,66
Palha de cevada/palha de alfafa (20%)	130
Resíduo de folha de capim-limão	113,01
Resíduo de algodão (75%)/palha (23%)/cal (2%)	104,9
Polpa de café/palha de cevada 5 dias fermentado	104,9
Resíduo de folha de canela	102,68
Palha de arroz	81,85
Resíduo de algodão (98%)/cal (2%)	81,25
Palha de cevada/farinha (8%)	79,18
Polpa de cevada (94%)/ farinha de pena (4%)	78
Resíduo de algodão (75%)/folha de chá (23%)/cal (2%)	74
Palha de ervilha seca	73,22
Palha de cevada/palha de alfafa (20%)	71,67
Palha de cevada/palha de alfafa (5%)	69
Palha de feijão voador	60,19
Palha de abóbora	56,93
Bagaço de cana/melaço (15%)	54,8
Casca de arroz	50
Cana-de-açúcar moída na hora	35,17

FONTE: Eira (2000)

Segundo Gowling e Merrill (1966 citado por DUPRAT, 2012) há três possibilidades que podem permitir a degradação da lignina, se desenvolvendo em substratos com baixo teor de nitrogênio, devido:

- Possuírem adaptações fisiológicas que possibilitam a utilização do pouco nitrogênio disponível por substâncias metabolicamente ativas e caminhos que são altamente eficientes na utilização dos constituintes da madeira;
- Possuírem capacidade de reutilizar o nitrogênio disponível por um sistema dinâmico e contínuo de autólices;
- Absorverem e utilizarem o nitrogênio de fontes externas ao substrato, como por exemplo, da atmosfera.

2.9.4 Preparo do Substrato

As gramíneas são trituradas (evitando-se pedaços maiores para que não se rasgue o pacote ou muito finos obstruindo o ar), secas (45-55 °C) e então novamente umedecidas até 60-65 % ou deixadas de molho de um dia para o outro, retirando-se o excesso de água, espremendo a gramínea com as mãos até sair pouca água (OEI; NIEUWENHUIJZEN, 2006). São então colocadas em sacos de polipropileno (PP) ou polietileno de alta densidade (PEAD) (relativamente impermeáveis à água e permeáveis a gases) e em seguida tampados com algodão ou espuma e levadas a autoclave a 121 °C por no mínimo 30-60 minutos. O substrato deve ser pasteurizado ou esterilizado, para reduzir ou eliminar insetos e os microrganismos indesejáveis, que competem por alimento ou atacam diretamente o cogumelo (BEYER, 2003).

É possível adicionar, ao material triturado, outros insumos (se houver necessidade nutricional para o fungo ou correção de pH), tais como farelo de arroz e gesso agrícola. Silva *et al.* (2007b) apresenta que de maneira geral, os cogumelos *Pleurotus* se desenvolvem bem em substratos com pouco nitrogênio em relação aos *Agaricus*, porém, substratos ricos em nitrogênio possibilitam o aumento na quantidade de proteína nos cogumelos (Tabela 9). Seus estudos demonstram que a suplementação com ureia (fonte de nitrogênio), até os limites de 1,30% do peso seco do substrato, possibilitou o aumento na quantidade proteica do cogumelo, além de aumentar o rendimento da produtividade (ZADRAZIL; BRUNNERT, 1979).

A fase sólida (água ligada ao sólido ou ausência de água livre ou água retida nos capilares do substrato) é constituída pelo suporte de crescimento, pela reserva de água que fornece os nutrientes e pela fonte de energia responsável pelo desenvolvimento microbiano, podendo ser adicionado vitaminas, sais ou outras fontes de carbono em

função das exigências microbianas ou do produto de metabolismo desejado (SOCCOL, 1994).

O cogumelo desejado deve ser capaz de colonizar o substrato antes de outros fungos ou bactérias. Nas (Tabelas 8 e 9), apresenta-se a composição centesimal e os dados de produção de *Pleurotus ostreatus* em diferentes substratos

TABELA 8 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DE *Pleurotus ostreatus* EM DIFERENTES SUBSTRATOS DE SERRAGEM

Subst.	PTN (N x 4,38)	Lip.	Fib.	Cin.	Cog. fresco	Cog. desidrat	Massa seca	Carb. total
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Marupá		(-0,02)	(-0,17)	(-0,7)	(-0,61)	(-0,02)		
	21,16	1,27	18,89	8,97	92	10,89	89,11	57,71
Pau de		(-0,04)	(-4,51)	(-0,32)	(-0,41)	(-0,08)		
balsa	16,12	2,08	31,3	6,71	91,6	11,62	88,38	63,47
Cajuí		(-0,06)	(-1,38)	(-0,36)	(-0,53)	(-0,01)		
	15	1,63	28,42	5,54	90,99	12,51	87,49	65,34

PTN – Proteínas, Lip. – Lipídeos, Fib. – Fibras, Cin. Cinzas. Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

FONTE: Sales-Campos; Eira (2011)

TABELA 9 - DADOS DE PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* EM DIFERENTES SUBSTRATOS

Cogumelo	Substrato	Rendimento (cogumelo/substrato)	Eficiência biológica	Perda de matéria orgânica
		(g/Kg)	(%)	(%)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Marupá	242,83	94	65,37
	Pau de balsa	161,33	64,42	67,68
	Cajuí	166,68	55,27	57,16

FONTE: Sales-Campos; Eira (2011)

2.9.5 Inoculação da semente (“spawn”) no substrato e incubação

A inoculação é a transferência do grão colonizado (“spawn”) para o composto preparado (gramíneas) para que o fungo se desenvolva e o colonize. Após a inoculação, o micélio desenvolve-se no substrato de forma vigorosa e livre de contaminações. Se a fase de crescimento do micélio não ocorrer com rapidez suficiente, outros organismos

podem estabelecer-se no composto e interferir em seu crescimento (BRAGA, 1999). A quantidade de inoculante a utilizar é um dos fatores que definirá a velocidade de crescimento do micélio no composto. Quanto maior e mais uniforme for a quantidade de “semente” adicionada, mais rápido o micélio irá colonizar o substrato. De acordo com Bononi *et al.* (1999) e Braga *et al.* (1999), para a adequada colonização, a quantidade de inoculante (“spawn”) deve ser de 1 a 2,5% da massa de composto seco e de 10% segundo Oei & Nieuwenhuijzen (2006). A inoculação deve ser realizada em capela de fluxo laminar.

Segundo Rajarathnam e Bano (1987 citado por EIRA, 2003), a quantidade de inóculo (“spawn”) afeta diretamente a produtividade e a eficiência biológica do *Pleurotus* spp. (Tabela 10). Verifica-se que quanto maior a quantidade de inóculo, maior é a eficiência biológica, porém ao se dobrar essa fração, a eficiência biológica não dobra o seu valor, havendo um aumento não significativo, concluindo que valores de inoculação maiores que 10%, ocasionam perda econômica na produção de *Pleurotus*.

TABELA 10 - EFEITO DA QUANTIDADE DE INÓCULO NA EB (EFICIÊNCIA BIOLÓGICA) DE *Pleurotus* spp.

Cogumelo	% “Spawn”	Período de frutificação	EB (%)
<i>Pleurotus flabellatus</i>	1,5	15,0	11,0
	3,0	14,0	31,0
	6,0	12,0	50,0
	9,0	10,0	65,0
	12,0	8,0	67,5
<i>Pleurotus florida</i>	5,0	-	50,0
	8,0	-	63,0
	11,0	-	70,0
<i>Pleurotus ostreatus</i>	10,0	-	77,5
	20,0	-	76,8
	30,0	-	89,8
	40,0	-	82,8
	50,0	-	73,9

FONTE: Eira (2003) citado por Rajarathnam & Bano (1989)

Após a inoculação os sacos são levados para o local de incubação e devem ser mantidos sem movimentação por 7 a 15 dias, período no qual haverá acúmulo de CO₂. A sala de incubação deve ser mantida limpa, seca, e escura. Carlile e Watkinson (1996)

sugerem que tais efeitos podem estar relacionados à destruição fotoquímica de componentes do meio, e em alguns casos a efeitos diretos no metabolismo do fungo.

Durante o período de crescimento do micélio, ocorre a produção e liberação de CO₂, além de outros metabólitos, as quais se acumulam no substrato sólido, inibindo o crescimento de microrganismos competitivos, estimulando o crescimento do micélio de *Pleurotus* spp. (ZADRAZIL, 1975).

A temperatura deve ser mantida entre 22 e 25 °C e a umidade relativa do ar em torno de 70%, podendo variar de acordo com a espécie de cogumelo cultivada até completa colonização do substrato (completa miceliação). O aumento ou queda excessiva de temperatura pode retardar o crescimento do fungo.

O pH dos resíduos agrícolas (gramíneas) é de aproximadamente 7,0 e durante o cultivo do gênero *Pleurotus* havendo uma redução deste valor, o que pode ser explicado pela secreção de exoenzimas, antibióticos e ácidos orgânicos durante a produção (ZADRAZIL, 1985).

O desenvolvimento do micélio dos fungos pode ser avaliado de diferentes formas, como: crescimento radial, velocidade de crescimento, vigor e massa de micélio. Fatores como características nutricionais do substrato, linhagem do fungo, temperatura, luminosidade, entre outros, afetam o seu cultivo (MARINO, 1997).

De acordo com Souza (2005), após um certo período de tempo, é adequado a realização de revisões para a retirada de pacotes contaminados com bactérias e fungos, oriundos de problemas como:

- Falta de esterilização;
- Falha na limpeza e desinfecção de objetos, do ar ambiente e do inoculador, durante a semeadura;
- Sementes contaminadas;
- Furos na parede da embalagem;
- Entrada de pragas devido a falha no fechamento das embalagens.

Nem todas as mudanças de coloração do substrato inoculado são resultantes de contaminação. A medida que o micélio vai envelhecendo, ocorre a formação de líquidos amarelos, exsudados compostos de álcool e ácidos que alteram o pH do substrato oriundos do metabolismo microbiano (BONONI *et al.*, 1999).

2.9.6 Frutificação e colheita

Após completo desenvolvimento do micélio sobre o substrato, transfere-se para uma sala com umidade relativa de 80 a 95% (evitando excesso de umidade nos primórdios para prevenir a presença de bactérias na sua superfície), ventilação (para inibir o acúmulo de CO₂ e consequente inibição do crescimento do cogumelo), luz suficiente para ler uma folha de papel (1500 a 2000 lux.hora⁻¹/12 horas ao dia) e temperatura compatível com o cogumelo (a irrigação controlada ajuda a refrescar o ambiente).

A falta de estabilidade no clima, durante o período que o micélio se encontra em sala clara, pode promover o início da frutificação dentro das embalagens, ocasionando a redução da produtividade de cogumelos. É necessário que haja bastante ventilação e ar fresco para que os primórdios cresçam. Sua falta pode resultar em mau desenvolvimento dos chapéus, havendo o aparecimento de cogumelos compridos ou no surgimento de pontos com coloração de ferrugem, ocasionada geralmente por bactérias e fungos (SOUZA, 2005).

Utilizando um estilete, cortam-se os pacotes em dois ou três lugares em forma de “X”, com aproximadamente 1 cm de diâmetro. Se houver interesse, corta-se uma superfície maior, porém haverá secagem do substrato mais rapidamente (OEI; NIEUWENHUIJZEN, 2006). A mudança súbita das condições físicas externas, estimula a formação dos primórdios, que se desenvolverão e formarão o basidioma (BONONI *et al.*, 1999).

Segundo Rajarathnam e Bano (1987 citado por EIRA, 2003), o plástico com uma menor espessura e uma maior quantidade de sua perfuração, promovem uma colonização mais rápida no substrato pelo decréscimo de CO₂ com consequente aumento na quantidade de O₂ incorporado no interior dos pacotes, influenciando na produtividade e eficiência biológica do *Pleurotus* spp. (Tabela 11).

TABELA 11 - EFEITO DOS FUROS NA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) DE *Pleurotus* spp.

Número de furos	Tempo de frutificação	Eficiência Biológica (EB)
(1 cm de diâmetro)	(dias)	(%)
0	-	0
8	16-18	7,5
16	5-17	15
24	10-12	35
32	8-10	60
40	8-10	50

FONTE: Eira (2003) citado por Rajarathnam & Bano (1987)

No período de 4 a 7 dias, o cogumelo estará pronto para a colheita, o qual deve ser removido do substrato (arrancado), evitando-se cortá-lo. O corte resulta na ruptura das células do cogumelo, havendo rompimento de estrutura e liberação de componentes intracelulares como enzimas de oxidação, promovendo o crescimento indesejável de outros microrganismos (bactérias, fungos e leveduras) com consequente contaminação do substrato, resultando em perturbações fisiológicas, principalmente, aumento da atividade respiratória e/ou etilênica (SAPATA *et al.*, 2010). Esta operação origina lesões celulares que favorecem o desenvolvimento microbiano, assim como o escurecimento das superfícies externas e de corte, além da hidrólise de pectinas e celulose.

O chapéu do cogumelo tem crescimento vertical e o momento exato para a colheita do cogumelo é quando as margens do chapéu estiverem planas. Após esta fase, o cogumelo começa a liberar esporos que resultarão na perda de peso e senescência, diminuindo sua vida útil de comercialização (BONONI *et al.*, 1999).

Deve-se observar alguns cuidados durante a colheita, como:

- Os cogumelos devem estar secos na superfície no momento da colheita.
- A retirada do cogumelo da terra ou do substrato deve ser de maneira suave, evitando-se arrancar pedaços do micélio, como também o excesso de manuseio, tocando-o apenas uma vez antes do acondicionamento em embalagem.
- Colher sempre cogumelos novos e com melhor aspecto.
- Não tocar os basidiomas que estejam doentes. Colocá-los em um saco separado e lavar bem as mãos.
- Após a formação de primórdios, a temperatura pode voltar a 20 - 23 °C, a umidade deve ser mantida alta e o ciclo de iluminação deve ser mantido regular.
- O ideal é colher os cogumelos antes da liberação de esporos, quando o píleo

(chapéu) está quase terminando de abrir.

- Os basidiomas podem ser mantidos sob refrigeração por aproximadamente uma semana, após a colheita.
- O substrato miceliado pode frutificar novamente. Para tanto, pode ser necessário repetir as técnicas de indução descritas acima. Não são incomuns três ciclos de frutificação (também chamados “fluxos” ou “floradas”). Porém, o rendimento é menor a cada ciclo. Ao final do processo resta uma massa micelial exaurida.
- A destinação do resíduo gerado deve ser avaliada com cautela. Muitas vezes o resíduo do cultivo de uma espécie pode ser reaproveitado para o cultivo de outra espécie de cogumelo. Outras possibilidades são: a conversão do material em adubo ou o aproveitamento como complemento para ração animal.

Na (Tabela 12), observa-se o período completo de produção de *Pleurotus ostreatus*, bem como as características do basidioma em um período de 100 dias.

TABELA 12 - PERFIL BIOLÓGICO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADOS EM RESÍDUOS MADEIREIROS (SERRAGENS) NO PERÍODO DE 100 DIAS DE CULTIVO

Cogumelo	Substrato	Incuba- ção	Primórdio (início)	Frutific. (início)	Nº fluxos	Dimensão do píleo (cm)	Altura do estipe (cm)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Marupá	21 a 33	23 a 30	32 a 35	4 a 6	3 a 12	0 a 1
	Pau de balsa	28 a 49	25 a 39	32 a 53	3 a 4	3,5 a 10	0 a 3
	Cajuí	31 a 42	26 a 40	38 a 45	3 a 5	2,5 a 7,5	0 a 0,5

FONTE: Sales-Campos; Eira (2011)

2.10 RESÍDUO DA PRODUÇÃO DE COGUMELOS

Os resíduos vegetais constituem-se de restos de culturas remanescentes (BAYER, 1992). O substrato residual apresenta alta digestibilidade, sendo rico em nutrientes, utilizado na alimentação de ruminantes e suínos, também sendo aproveitado como fertilizante de hortas e plantações e na produção de biogás (MANSUR *et al.*, 1992; BUSWELL; CHANG, 1993; FURLANI e GODOY, 2005).

Alguns autores diferenciam substrato residual (“SMS”) e composto residual (“SMC”): a primeira denominação é utilizada para o substrato residual que não foi submetido a um processo de compostagem previamente ao cultivo fúngico, a segunda denominação geralmente é utilizada para o composto residual da produção de cogumelos. No presente trabalho, ambos os resíduos foram denominados composto residual ou CR.

Cada quilograma de cogumelo produzido gera aproximadamente cinco quilogramas de composto residual (WILLIAMS; McMULLAN; McCAHEY, 2001). Levando-se em conta a produção mundial de cogumelos anual de 8 milhões de toneladas (CHIU *et al.*, 2000), verifica-se a geração de cerca de 40 milhões de toneladas de CR. Estima-se que 70 a 80% deste composto é descartado como lixo (SEMPLE; WATTS; FERMOR, 1998), também causando problemas ambientais, devido ao seu destino inadequado.

Contudo, sua utilização como fertilizante e condicionador de solos, especialmente na floricultura e horticultura, torna-se uma das possibilidades mais viáveis para seu uso (MAHER *et al.*, 2000). Esta implementação tem dado certo (MAHER *et al.*, 2000; CHONG, 2004) por produtores em diversos países, principalmente nos europeus. No entanto, as pesquisas na área de aproveitamento de CR tem sido muitas vezes, contraditórias, incompletas ou inconclusivas (CHONG, 2004).

O compostos residual apresenta baixa densidade (300 kg/m^3) e alto conteúdo de água (70%, w/w). Geralmente é um substrato uniforme, constituído por matéria orgânica estabilizada. O processo de compostagem, quando realizado, e o desenvolvimento do fungo proporcionam a adsorção de nutrientes à fração de matéria orgânica do composto, evitando a lixiviação excessiva desses nutrientes. Em adição, o composto apresenta um pH geralmente elevado (dependendo do fungo cultivado), variando entre 7 e 8, e ao ser incorporado no solo, o CR geralmente proporciona um aumento do pH, assim como um aumento de sua capacidade de troca catiônica e uma maior agregação (MAFF, 2004).

Portanto o CR torna-se um fertilizante com características agronômicas interessantes, principalmente pelo alto valor de matéria orgânica, podendo ser incorporado ao solo, aumentando a sua capacidade de retenção de água, além de fornecer macro-nutrientes (como N e P) para a nutrição vegetal (DODD *et al.*, 1998).

O composto residual contém, em média, altas quantidades de nitrogênio, potássio, fósforo, cálcio e traços de outros elementos, em especial o ferro (CHONG; RINKER, 1994; GERRITS, 1994), portanto, ao ser incorporado no solo, o CR geralmente proporciona um aumento do pH, assim como um aumento de sua capacidade de troca catiônica e uma maior agregação (MAFF, 2004).

2.11 FORMAÇÃO DO SOLO, HUMIDIFICAÇÃO, MINERALIZAÇÃO E CONVERSÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA

Os solos são corpos naturais oriundos da decomposição e recomposição de partículas minerais e de substâncias orgânicas. Esta decomposição ocorre enquanto os organismos agem de modo intenso na destruição dos restos vegetais e animais, as forças do intemperismo ocasionam, com menor velocidade, a decomposição das partículas minerais e a formação de novos compostos (VIEIRA, 1988).

O teor de matéria orgânica no solo é determinado pela relação, entre a adição de material orgânico e a taxa de decomposição. Adições de carbono ao solo alteram o balanço de CO no sentido de aumentar os seus teores (BROWN & DICKEY, 1970; SOMMERFELDT & CHANG, 1985).

A decomposição da matéria orgânica e a síntese de novos complexos orgânicos são conhecidas com o nome de humidificação. A humidificação é a formação do húmus, a mineralização é a formação de complexos produtos orgânicos em componentes mais simples como o dióxido de carbono e outros gases, a água e minerais (VIEIRA, 1988).

Os compostos nitrogenados, como as proteínas e os aminoácidos, originam amônio, que pode ser parcialmente adsorvido pelo solo e convertido em ácido nítrico pelos microrganismos nitrificantes. O enxofre convertido nas proteínas é transformado em ácido sulfúrico por organismos especializados. Além destes, muitos outros ácidos resultam ainda da decomposição da matéria vegetal, como o ácido cítrico, oxálico, fórmico, e principalmente o ácido carbônico resultante da dissolução do CO₂ na água. A importância desses ácidos não ocorre somente nos processos químicos de destruição de complexas moléculas de minerais, como os silicatos, mas também pela sua presença determinar o caráter ácido do húmus e por regular a atividade dos microrganismos, responsáveis pela decomposição dos resíduos orgânicos (VIEIRA, 1988).

De acordo com Tauk (1990), pelo menos quatro grupos distintos de microrganismos envolvem-se na decomposição de material vegetal exógeno: celulolítico, pectinolíticos e ligninolíticos. A degradação de um substrato complexo, folhas, tecidos microbianos mortos, processa-se mais rapidamente na presença de uma grupo microbiano do que na presença de uma única população.

As fontes de adubos orgânicos podem apresentar características muito distintas, podendo ser classificados em fertilizante orgânico e fertilizante composto. O fertilizante orgânico é o “fertilizante de origem vegetal ou animal contendo um ou mais nutrientes das

plantas” e o fertilizante composto é o “fertilizante obtido por processo bioquímico, natural ou controlado com mistura de resíduos de origem vegetal ou animal” (VILAS BÔAS *et al.*, 2004).

A adubação orgânica é fundamental no cultivo de hortaliças, principalmente em solos de clima tropical, onde a queima de matéria orgânica se realiza intensamente, e onde seu efeito é bastante conhecido nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (ALLISON, 1973).

2.12 ALFACE

A alface encontra-se entre as dez hortaliças mais consumidas *in natura* no mundo. No Brasil, calcula-se que a plantação anual seja aproximadamente de 110000 ha de alface (SILVA *et al.*, 1995). A alface é a hortaliça folhosa mais comercializada no Brasil, sendo grande fonte de vitaminas e sais minerais, com alto teor de Vitamina A. Adapta-se a clima ameno, atingindo as maiores produções quando cultivada no inverno. A limitação do cultivo no verão é a baixa qualidade do produto que eleva o preço nesse período (DELISTOIANOV, 1997).

A cv. Verônica (crespa) lidera o mercado com 70% de toda produção de alface, enquanto o tipo americana detém apenas 15% (COSTA; SALA, 2005). Dentre as hortaliças folhosas, a alface é a mais plantada e consumida pela população brasileira, tendo o estado de São Paulo como o principal produtor de hortaliças, com o maior mercado consumidor do Brasil (CAMARGO FILHO; CAMARGO, 2008).

A planta é herbácea, delicada, com caule diminuto, onde se prendem as folhas. Estas são amplas e crescem em roseta, em volta do caule, podendo ser lisas ou crespas, formando ou não uma cabeça, com coloração em vários tons de verde, ou roxa, conforme a cultivar, e são essas características que determinam à escolha do consumidor. O sistema radicular é muito ramificado e superficial, explorando apenas os primeiros 0,25 m do solo, quando a cultura é transplantada. Em semeadura direta, a raiz pivotante pode atingir até 0,60 m de profundidade (FILGUEIRA, 2003).

Segundo Figueira (1982), o preparo das mudas para o cultivo de alface realiza-se em sementeiras, transplantadas 20 a 30 dias após a semeadura, quando apresentam de 4 a 6 folhas e uma altura média de 8 a 10 cm. O pH do solo de cultivo precisa ser corrigido previamente entre 6 e 6,8, faixa de pH ótima para o desenvolvimento de *L.*

sativa. O período de cultivo varia de 40 a 70 dias dependendo do sistema (semeadura direta ou transplante de mudas), época de plantio (verão ou inverno), cultivar utilizado e sistema de condução, no campo ou protegido (LIMA, 2007). Apresentam ótimo desenvolvimento vegetativo entre 15 a 20 °C, sendo susceptíveis às geadas (ADP FERTILIZANTES, 2014).

Essa hortaliça apresenta solo ideal de textura média, rico em matéria orgânica e com boa disponibilidade de nutrientes. Para obtenção de maior produtividade, necessita-se do uso de insumos que melhorem as condições físicas, químicas e biológicas do solo. Obtêm-se as maiores produções a partir da melhoria das características químicas e físico-química do solo, podendo ser obtida com a adição de doses crescentes de compostos orgânicos (SOUZA *et al.*, 2005).

As hortaliças possuem diferentes exigências de macronutrientes e no padrão de absorção durante o crescimento. Segundo com Gomes (2001), em geral, na cultura da alface, a absorção de N, P e K segue a mesma tendência que a taxa de acúmulo de biomassa da cultura.

O crescimento da alface e o acúmulo de nutrientes é lento, até 30 dias após a emergência, aumentando rapidamente após este período. Apesar de absorver quantidades relativamente pequenas de nutrientes quando comparada com outras culturas, por apresentar um ciclo de cultivo curto, a alface pode ser considerada exigente em termos nutricionais, especialmente na fase final do ciclo (RIBAS, 2009).

De acordo com Vieira & Cury (1997), o elemento climático que mais exerce influencia nos processos fisiológicos das plantas de alface é a temperatura, que pode acelerar ou retardar as reações metabólicas, sob condição de temperatura ótima ou inferiores a esta, respectivamente. Para todas as cultivares de alface, dias curtos e temperaturas amenas favorecem a etapa vegetativa, sendo estas, resistentes a baixas temperaturas e geadas leve (FILGUEIRA, 2003).

Uma produção eficiente e rentável deve ser a principal meta econômica da propriedade rural. Para isto sejam possíveis, os recursos disponíveis devem ser utilizados de forma racional no processo de produção, obtendo-se a melhor produtividade. Para um melhor conhecimento da produtividade em função dos insumos, é necessário gerar uma função de resposta da cultura, uma relação física entre as quantidades de certo conjunto de insumos e as quantidades físicas máximas que podem ser obtidas do produto, para dada tecnologia (FRIZONE, 1993).

Indica-se as hortaliças folhosas na dieta alimentar de pessoas em tratamento da obesidade e de doenças crônico-degenerativas por apresentarem baixo valor calórico, o

que amplia seu mercado. A importância da alface na alimentação e saúde humana se deve-se por ser fonte de vitaminas e sais minerais, constituindo-se na mais popular dentre aquelas em que as folhas são consumidas. Seu consumo é feito *in natura*, e nessas condições a alface contém a seguinte composição média, por 100 g: água: 94%; valor calórico: 18 Kcal; proteína: 1,3 g; extrato etéreo: 0,3 g; carboidratos totais: 3,5 g; fibra: 0,7 g; cálcio: 68 mg; fósforo: 27 mg; ferro: 1,4 mg; potássio: 264 mg; tiamina: 0,05 mg; riboflavina: 0,08 mg; niacina: 0,4 mg; vitamina C: 18,0 mg, para alface produzida no solo (OHSE, 2001).

2.13 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O planejamento experimental é uma técnica que melhora processos e produtos, minimizando custos e tempo, visando maximizar rendimento e produtividade (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

2.13.1 ANOVA

A Análise de Variância (ANOVA), é o método mais utilizado para a análise de estudos de repetitividade e reprodutibilidade. Usando a ANOVA, a variabilidade pode ser decomposta em repetitividade e reprodutibilidade, sendo possível também avaliar a interação entre os dois componentes. A ANOVA possibilita estimativas mais precisas da variabilidade do sistema através do cálculo do erro aleatório, obtido com as repetições. O erro de medição é composto pela dispersão do instrumento, pelo efeito do avaliador e pelo erro aleatório, devido às replicações (AIAG, 2002).

2.13.2 Plackett & Burman

Este delineamento tem por finalidade apenas a seleção de variáveis significativas com um número mínimo de 4 variáveis estudadas. Delineamentos fatoriais fracionados

podem ser utilizados para seleção e determinação de componentes do meio (num meio já formulado), ou parâmetros fermentativos os quais podem ter um efeito significativo e podem ser otimizados. Entretanto, delineamentos do tipo Plackett-Burman são mais eficientes para propostas de seleção, se não são conhecidos quais componentes deveriam ou não estar presentes no meio (RODRIGUES; IEMMA, 2009).

A composição do meio de produção é um parâmetro chave na otimização de processos em fermentação no estado sólido, porque os fatores nutricionais tais como a fonte de carbono, e os níveis de nitrogênio e metais, podem influenciar o crescimento e produção de metabólitos, enzimas e esporos (OOIJKAAS, 1988).

2.13.3 Fatorial de 2^2 com repetição nos pontos centrais

O delineamento no fatorial 2^2 , ocorre quando há dois fatores, com dois níveis. São do tipo inteiramente casualizados, sempre que cada um dos dois tratamentos for atribuído aleatoriamente. Esse tipo de delineamento é muito utilizado em laboratório e/ou locais no qual as fontes externas de variação são, geralmente, muito bem controladas, apresentando a grande vantagem de fornecer o maior número possível de graus de liberdade para o resíduo (RODRIGUES; IEMMA, 2009).

Esse mesmo autor descreve que os ensaios no ponto central possibilitam informações muito importantes sobre o comportamento das respostas entre os níveis atribuídos inicialmente aos fatores, evidenciando a qualidade da repetitividade do processo. A repetição no ponto central viabiliza o cálculo de resíduos, com consequente erro padrão, então das estimativas por intervalo, dos testes e assim por diante. A vantagem é o fornecimento do maior número possível de graus de liberdade para o resíduo e a desvantagem é a obtenção de um plano (área) e não uma curva tridimensional, como nos planejamentos que têm pontos axiais, que respeitam os critérios de rotacionalidade e ortogonalidade (RODRIGUES; IEMMA, 2009)

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE COLETA EXPERIMENTAL E CARACTERIZAÇÃO DA PUPUNHA

A área de coleta experimental da pupunha localiza-se na Estrada Alexandra - Matinhos Km 12, Município de Paranaguá – PR, entre as coordenadas 25 ° 09' 19,2" S e 48 ° 35' 15,0" W (Figura 1).



FIGURA 1 - LOCALIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL COM PLANTIO DE PUPUNHEIRA PARA PALMITO

A área foi utilizada para pastagem e cultivo de gengibre, de 1999 até o final de 2000. Segundo EMBRAPA (1997), seu relevo é plano, o solo pertence à classe Cambissolo Háplico, de textura média. O clima é do tipo Af Tropical superúmido, sem déficit hídrico. A média da temperatura do mês mais quente é superior a 22 °C e a do mês mais frio, superior a 18 °C. A umidade relativa média do ar é superior a 85%, e o índice pluviométrico encontra-se em torno de 2500 a 3000 mm anuais.

A bainha foi retirada de pupunhas com 14 a 18 meses de cultivo, resultante do descasque da produção de palmito em conserva, na qual o resíduo era destinado ao aterro sanitário. Variedades de pupunha não são bem definidas devido aos poucos trabalhos de melhoramento genético realizado no mundo. A pupunha estudada nesse trabalho foi a *Bactris gasipaes* Kunth.

3.2 PREPARAÇÃO INICIAL DAS AMOSTRAS DE BAINHA DE PUPUNHA E

ARMAZENAMENTO

As bainhas foram trituradas, em um moinho de facas, em pedaços de aproximadamente 5 cm (Figura 2).



FIGURA 2 - PUPUNHA TRITURADA EM MOINHO DE FACAS

As bainhas trituradas foram transportadas para o laboratório de Engenharia de Alimentos, na Universidade Federal do Paraná - UFPR, onde foram espremidas para separação da fração sólida (seca posteriormente a 55 °C e armazenadas em sacos de polietileno) da fração líquida (armazenada à -18 °C).

3.3 MICROORGANISMO E MANUTENÇÃO

Para os experimentos utilizando fungos, utilizou-se a linhagem *Pleurotus ostreatus*, sob o código PL 24, obtida do Laboratório de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Federal do Paraná - UFPR, sob o código PL 24. Também utilizou-se a linhagem *Pleurotus djamor*, obtido por isolamento de cultura de um cogumelo nativo de Curitiba-PR. As culturas foram mantidas em placas de Petri contendo meio BDA (Batata Dextrose Ágar). O meio foi esterilizado em autoclave a 121 °C, durante 20 minutos. Cada placa foi inoculada com um disco de ágar de aproximadamente 10 mm de diâmetro,

contendo o micélio fúngico, proveniente de uma cultura prévia, colocada no centro da placa, incubada em faixa de temperatura que compreendeu 18 e 26 °C até o desenvolvimento do micélio por toda a superfície da placa.

3.4 AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO MICELIAL DE DIFERENTES CEPAS DE COGUMELOS, EM DIFERENTES FRAÇÕES DE BAINHA DE PUPUNHA.

3.4.1 Preparo da amostra

As bainhas trituradas foram submetidas, inicialmente, ao processo de secagem a 55 °C por 3 dias. Colocou-se o material seco (Figura 3) em placa de Petri, esterilizando-se em autoclave a 121 °C, durante 40 minutos, adicionando-se posteriormente Ágar-Ágar (autoclavado a 121 °C, durante 20 minutos). Ao término do resfriamento da placa, a bainha se tornou apta como substrato para os fungos. Cada placa foi inoculada com um disco de BDA de 10 mm de diâmetro, contendo o micélio fúngico, proveniente de uma cultura prévia, colocada no centro da placa, incubada em estufa microbiana, com faixa de temperatura entre 20 e 25 °C, até o desenvolvimento do micélio por toda placa.



FIGURA 3 - PUPUNHA SECA TRITURADA

3.4.2 Avaliação de crescimento radial fúngico e escolha do microrganismo adequado para desenvolvimento em bainha de pupunha.

Avaliou-se a taxa de crescimento radial do micélio de cinco diferentes espécies de cogumelos comestíveis: *Agaricus subrufescens*, *Coprinus comatus*, *Pleurotus djamor*, *P. eryngii* e *P. ostreatus*; em centímetros por dia (cm/dia), em dois sentidos longitudinais, calculando-se a média da velocidade de crescimento de cada microrganismo, determinando-se a espécie mais adaptada ao substrato. O experimento foi realizado em triplicata e os resultados foram estatisticamente analisados por ANOVA e Tukey, para um nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

3.5 FATORES SIGNIFICATIVOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE *Pleurotus djamor* NA FRAÇÃO LÍQUIDA DA BAINHA DE PUPUNHA EM RELAÇÃO A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, QUANTIDADE PROTEICA, BIOMASSA E FRUTIFICAÇÃO NA FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA.

3.5.1 Planejamento estatístico

Para estudar os efeitos da composição do meio de cultura contendo a fração líquida de bainha de pupunha e das condições de fermentação em relação à atividade de antioxidante, quantidade de proteínas, biomassa e frutificação, utilizou-se um planejamento do tipo Plackett-Burman de 6 variáveis, 12 ensaios e 3 repetições no ponto central (Tabelas 13 e 14) (RODRIGUES; IEMMA, 2009), envolvendo os seguintes fatores (e respectivos níveis): concentração de substrato líquido (fração líquida da bainha de pupunha) (20, 50 e 80%), tempo (7, 10,5 e 14 dias), extrato de levedura (2, 3 e 4 g/L), glucose (0, 5 e 10 g/L), sulfato de cobre (0, 50 e 100 μM) e sulfato de zinco (0, 50 e 100 μM).

A análise foi realizada em quintuplicata e os resultados foram estatisticamente analisados por ANOVA e Tukey, para um nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

As variáveis estudadas e seus respectivos níveis encontram-se nas Tabelas 13 e 14.

TABELA 13 - VARIÁVEIS E NÍVEIS UTILIZADOS NO PLANEJAMENTO DO TIPO PLACKETT-BURMAN (6 VARIÁVEIS, 12 ENSAIOS E 3 REPETIÇÕES NO PONTO CENTRAL)

Variáveis	Código	Níveis		
		-1	0	1
Concentração de substrato (%)	X1	20	50	80
Tempo (dias)	X2	7	10,5	14
Extrato de levedura (g/L)	X3	2	3	4
Glucose (g/L)	X4	0	5	10
Sulfato de cobre (CuSO ₄) (μM)	X5	0	50	100
Sulfato de zinco (ZnSO ₄) (μM)	X6	0	50	100

TABELA 14 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DO TIPO PLACKETT-BURMAN (6 VARIÁVEIS, 12 ENSAIOS E 3 REPETIÇÕES NO PONTO CENTRAL) PARA ESTUDO DOS EFEITOS DA COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTURA E DAS CONDIÇÕES DE FERMENTAÇÃO EM RELAÇÃO À ATIVIDADE DE ANTIOXIDANTE, QUANTIDADE DE PROTEÍNAS E DE BIOMASSA.

Ensaio	[]	Glucose	Extrato de Levedura	CuSO ₄	ZnSO ₄	Dias
1	1	1	-1	1	-1	+1
2	1	1	1	-1	-1	-1
3	-1	1	1	1	-1	-1
4	-1	-1	1	1	1	-1
5	-1	-1	-1	1	-1	1
6	1	-1	-1	-1	1	-1
7	-1	1	-1	-1	1	1
8	1	-1	1	-1	-1	1
9	1	1	-1	1	1	-1
10	-1	1	1	-1	1	1
11	1	-1	1	1	1	1
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1
13	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0

As variáveis-resposta avaliadas foram atividade antioxidante (μM Trolox/% de extrato), ocorrência de frutificação (unidade), quantidade de proteínas (mg/mL) e de biomassa (g/L).

3.5.2 Preparo da amostra

O meio foi autoclavado por 15 minutos a 121 °C. Após o resfriamento, os frascos Erlenmeyer foram inoculados com um pedaço de BDA (Batata Dextrose Agar) de aproximadamente 12 mm contendo micélio de *Pleurotus djamor* (Figura 4).



FIGURA 4 – FRASCOS ERLENMEYER INOCULADOS COM *Pleurotus djamor*.

Os ensaios foram realizados em agitador orbital com controle de temperatura e agitação, no qual foram colocados frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 125 mL de meio fermentado e incubado a 25 °C, 120 rpm, sem iluminação. Após o período de tempo estabelecido (7 e 14 dias), as amostras foram posteriormente transferidas para microtubos e centrifugadas a 10000 rpm por 15 minutos, coletando-se o sobrenadante para as posteriores análises.

3.5.3 Determinação de atividade antioxidante pelo método ABTS

O método ABTS utilizado foi adaptado do método descrito por Rufino *et al.* (2007) e RE *et al.* (1999). A absorbância foi medida em leitor de ELISA (Bio-Tek, modelo Power Wave XS) a 530 nm, no tempo de 6 minutos após a adição da amostra.

A capacidade antioxidante total das amostras foi calculada em relação à atividade do Trolox e do ácido ascórbico nas mesmas condições. Os experimentos foram realizados em quintuplicata e os resultados expressos em $\mu\text{g/mL}$ de TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox) (RICE-EVANS *et al.*, 1997).

3.5.4 Ocorrência de frutificação

Verificou-se visualmente os tratamentos que apresentaram desenvolvimento de basidioma na superfície do substrato no interior dos Erlenmeyers, classificando a frutificação em uma escala não hedônica, atribuindo-se como ausente de frutificação (0) e muito frutificado (5).

3.5.5 Determinação do teor proteico pelo método de fenol (Follin-Ciocalteau-Lowry)

O método de Lowry se baseia na reação do cobre com a proteína, em meio alcalino, e posteriormente redução do reagente de fosfomolibdato-fosfotungstenato no reagente folin. Quando o reagente folin é adicionado à proteína tratada com o cobre, ocorre a redução do reagente folin que resulta em uma cor azul mais intensa, com absorção máxima em 550 nm, medida num espectrofotômetro e comparada com uma curva padrão (LOWRY, 1951; CECHI, 2003).

3.5.6 Determinação da quantidade de biomassa

De acordo com a metodologia descrita por Maziero e Zadrazil (1994), ao término do experimento, os meios de cultura foram filtrados em papel Whatman, previamente secos em estufa a 60 °C até peso constante. A biomassa micelial seca foi obtida pela diferença entre o peso total e o peso do papel filtro.

A análise foi realizada em quintuplicata e os resultados foram estatisticamente comparados por ANOVA e Tukey, para um nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

3.6 INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE INÓCULO E DO NÚMERO DE FUROS NO CULTIVO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS UTILIZANDO BAINHA DE PUPUNHA, SUBMETIDA A FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO PELA TÉCNICA *Jun-Cao*

3.6.1 Aspectos iniciais considerados

As salas de incubação e frutificação foram higienizadas com hipoclorito de sódio (NaClO) para redução de carga microbiana indesejável. A higiene é essencial em todas as etapas e áreas do cultivo (inclusive externas e vizinhanças), uma vez que o controle químico de pragas e doenças não é permitido.

O cultivo de cogumelos foi feito em condições climáticas apropriadas. As portas e janelas dos locais de cultivo foram fechadas corretamente, prevenindo a entrada de insetos nos recintos de cultivo. Utilizou-se uma malha para ajudar nesse processo, devido ao cheiro dos cogumelos ser muito atrativo para moscas, ocasionando contaminação do produto.

3.6.2 Preparo do inóculo (semente ou “spawn”)

Conforme metodologia descrita por Soccol (1994) e Cassou (2001), para a produção do inóculo utilizou-se trigo como substrato e suporte fúngico, por ser o composto amiláceo mais adequado para o crescimento de *Pleurotus ostreatus*, em fermentação em estado sólido, para a produção de “spawn” (Tabela 15).

TABELA 15 - CRESCIMENTO DO *Pleurotus ostreatus* EM DIFERENTES SUBSTRATOS NATURAIS (ARROZ, TRIGO, CENTEIO E BAGAÇO DE MANDIOCA) E EM MEIO COMPLEXO (SINTÉTICO)

Substrato	Amido residual (g/L)	Biomassa formada (g/L)	Glucose formada (g/L)	pH final
Arroz	0,57±0,031	5,68±0,12	2,1±0,085	6,7
Trigo	0,72±0,027	6,27±0,25	2,7±0,061	6,7
Centeio	0,86±0,035	5,87±0,42	2,8±0,093	6,4
Bagaço de mandioca	2,19±0,093	4,77±0,087	2,3±0,20	6,6
Meio sintético complexo	3,48±0,25	5,41±0,18	-	4,9

FONTE: Soccol (1994)

Condicionou-se 500 g de grãos de trigo em pacotes de polipropileno (20x30cm.0,12mm). Os grãos foram adicionados de água até aproximadamente 50% do seu peso seco, para absorção de umidade por 4 horas. Após esse período, os pacotes foram fechados com respiro de espuma e esterilizados em autoclave a 121 °C, durante 40 minutos, possibilitando ambiente estéril e aeróbio após autoclavagem no interior dos pacotes contendo substrato (Figura 5). Após o resfriamento, cada pacote foi inoculado, em câmara de fluxo laminar, com um pedaço disco de ágar com aproximadamente 12 mm de diâmetro contendo micélio de *Pleurotus ostreatus*. Os pacotes foram então incubados, em ausência de luz, com temperatura em torno de 22-25 °C e umidade em torno de 70% até colonização total dos grãos de trigo (aproximadamente 30 dias) (Figura 6). Essa matriz serviu como fonte de inóculo para os substratos de cultivo para produção do basidiocarpo de *Pleurotus ostreatus* em bacia de pupunha.



FIGURA 5 - PACOTE DE "SPAWN" INOCULADO



FIGURA 6 - PACOTE DE "SPAWN" COLONIZADO

3.6.3 Preparo do substratos e incubação

As bainhas de pupunha foram secas a 55 °C por 3 dias (FAN; SOCCOL; PANDEY, 2001), condição de umidade suficiente para armazenagem por meses em saco plástico comum. Posteriormente a pupunha seca foi imersa em água (a proporção aproximada foi de 60 g para cada fração desidratada, submersa em 2 L de água corrente por 24 horas) e escorrida por prensagem, para retirada de excesso de água e umidade final desejada de aproximadamente 70%. Em seguida, massas de 500 g de pupunha úmida (correspondente a 150 g de substrato em base seca por pacote), foram acondicionadas em pacotes de polipropileno (20x30cm.0,12mm), fechados com respiro de espuma e esterilizados em autoclave a 121 °C, por 40 minutos (possibilitando ambiente estéril e aeróbio após autoclavagem). A inoculação ocorreu em câmara de fluxo laminar utilizando percentuais de inóculo mínimo e máximo de 10 e 40%, respectivamente (Tabela 16), semelhante ao usado por Duprat (2012), o qual utilizou 5 e 20% em seus estudos relacionando quantidade de inóculo e fração de farelo de arroz na pupunha como substrato. A incubação ocorreu a 20-25 °C, com umidade aproximada de 70%, em uma sala fechada (Figura 8), na ausência de luz, até a completa colonização do substrato pelo micélio (33 dias) (Figura 7).

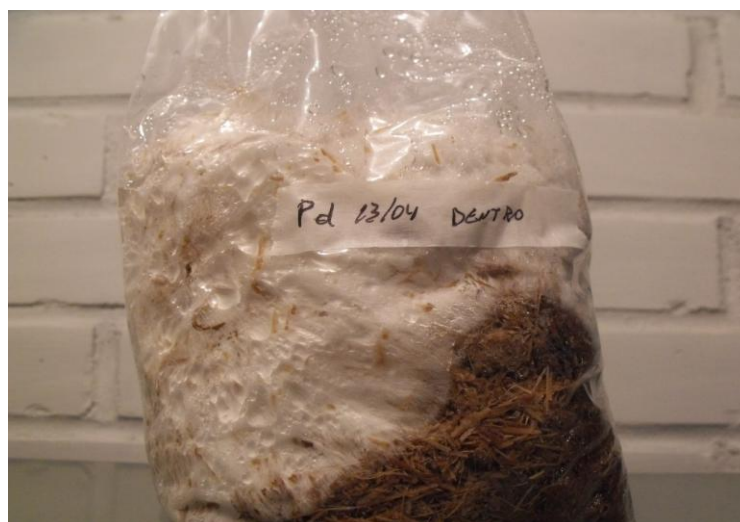


FIGURA 7 - MICÉLIO DE *Pleurotus ostreatus* FORMADO NO SUBSTRATO



FIGURA 8 - SALA DE INCUBAÇÃO PARA O CRESCIMENTO MICELIAL

Após esse período, os pacotes foram então encaminhados para a sala de frutificação, e com o auxílio de um estilete, foram cortados em dois, três ou quatro lugares, de diâmetro médio aproximado de 2,5 cm, em forma de “X”, conforme o tratamento utilizado, sendo acondicionados em prateleiras a 20 cm do solo, recebendo iluminação solar indireta em quantidade adequada para o cultivo (1500 a 2000 lux/hora aproximadamente), num fotoperíodo de 12 horas de luz/dia (Figura 9). A temperatura foi mantida em torno de 18-25 °C e a umidade relativa do ar entre 80-90% (SANTOS, 2000; BONATTI, 2004).



FIGURA 9 - SALA DE FRUTIFICAÇÃO DE *Pleurotus ostreatus*

3.6.4 Planejamento estatístico

Para o estudo da produção de *Pleurotus ostreatus* em bacia de pupunha, utilizou-se um planejamento fatorial 2^2 , ou seja, dois fatores (variáveis) em dois níveis, totalizando 4 experimentos para cada substrato, mais 3 repetições para o ponto central. As variáveis reais e codificadas foram a fração de inóculo de *Pleurotus ostreatus* (%) e o número de furos realizados no pacote (unidade) (Tabela 16). Os parâmetros medidos foram a eficiência biológica (%), a produtividade (%), a composição físico-química [g(100g-1)] e o perfil biológico. Os resultados experimentais foram realizados de acordo com o modelo matemático (Eq. 1). A significância de todos os termos no polinômio foi avaliada estatisticamente por Tukey ($P < 0,05$).

TABELA 16 - PLANEJAMENTO FATORIAL DOS EXPERIMENTOS PARA A PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus*. OS ÍNDICES (-) E (+) INDICAM O NÍVEL DE CADA VARIÁVEL COMO INFERIOR E SUPERIOR, RESPECTIVAMENTE

Variáveis	Níveis	
	-	+
Fração de inóculo	10	40
Número de furos	2	4

Ensaio	Fração de inóculo (%)	Número de furos (unid.)
1	10	4
2	10	2
3	40	4
4	40	2
5	25	3
6	25	3
7	25	3

Os resultados experimentais foram realizados de acordo com o modelo matemático (Eq. 1). Para qualquer resposta (variável dependente), Y é geralmente desconhecido, no entanto, ele pode ser estimado com precisão através de uma expressão polinomial de segunda ordem, que é responsável por variações causadas por efeitos de ordem linear e quadrática, bem como por interações (BORGES *et al*, 2011; MONTGOMORY, 2004).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad (1)$$

onde Y representa a variável dependente (resposta estimada): β_0 , β_1 , β_2 e β_{12} representam o coeficiente de equação; X_1 e X_2 representam as variáveis independentes estudadas, fração de inóculo e número de furos, respectivamente. As tabelas de análise de variância (ANOVA) foram geradas, no qual o efeito e o coeficiente de regressão linear individual e de interação foram determinados. A significância de todos os termos no polinômio foi avaliada estatisticamente por Tukey ($P < 0,05$). Os coeficientes de regressão foram utilizados nos cálculos estatísticos para gerar superfícies de resposta a partir dos modelos de regressão. Para verificar a adequação dos modelos, os dados experimentais foram comparados com os valores previstos pelos modelos de regressão.

3.6.5 Comportamento fisiológico dos basidiomas

O início da formação dos primórdios foi analisado pelo número de dias necessários para o aparecimento de pequenos basidiomas após a realização dos furos nos pacotes (1º ciclo de frutificação) e após a primeira colheita dos cogumelos (início do 2º ciclo de frutificação). Verificou-se quantos furos resultaram em basidiomas, avaliando-se com o auxílio de um paquímetro, o diâmetro longitudinal referente à altura (distância entre o estipe e a borda do píleo), largura (tamanho longitudinal do píleo) e comprimento (estipe + píleo), em centímetros, no período de colheita dos cogumelos (Figura 10). (obs.: achei estranho este desenho. Se puder substitua ou descreva apenas por escrito).

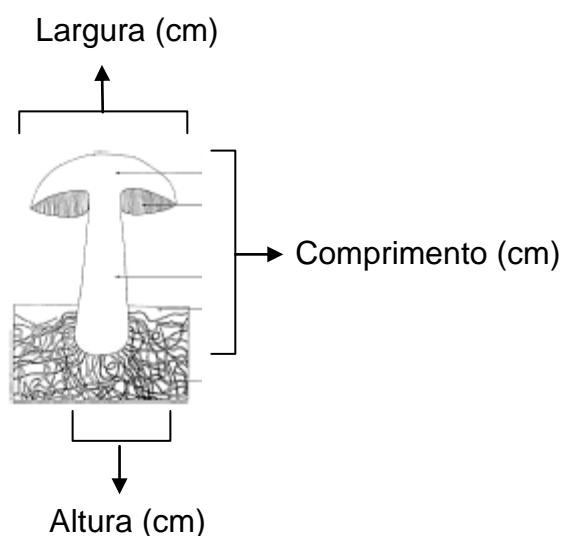


FIGURA 10 – ESQUEMA DE MEDIÇÃO DO BASIDIOMA
FONTE: Maio (2003)

3.6.6 Avaliação dos parâmetros produtivos

3.6.6.1 Eficiência Biológica (EB)

A eficiência biológica do substrato indiretamente demonstra a capacidade do substrato para o cultivo de cogumelos (Ragunathan *et al.*, 2003) e foi definida como a razão entre o peso fresco dos basidiomas colhidos e o peso seco do substrato, como nos estudos de Yildiz *et al.* (2002b), Zhang *et al.* (2002) e Das & Mukherjee (2007) (Eq. 2).

$$EB (\%) = \frac{\text{Massa de cogumelos fresco}}{\text{Massa de substrato seco}} \times 100 \quad (2)$$

3.6.6.2 Produtividade (P)

Para determinação da produtividade do processo (rendimento), foi utilizada a relação proposta por Rivas *et al.* (2010), Gonçalves *et al.* (2010) e Sales-Campos; Andrade (2011), que relacionam a massa úmida dos basidiomas e a massa fresca de

substrato (Eq. 3).

$$P (\%) = \frac{\text{Massa de cogumelos fresco}}{\text{Massa de substrato fresco}} \times 100 \quad (3)$$

3.6.7 Análises físico-químicas

3.6.7.1 Umidade

Determinou-se o teor de umidade através da diferença de massa das amostras úmidas e secas em estufa a 105 °C até obtenção de massa constante, dividida pela massa de amostra úmida, vezes 100 (A.O.A.C, 1984).

3.6.7.2 Cinzas

O percentual de cinzas foi calculado pela massa da amostra após incineração segundo método A.O.A.C (1984). Colocou-se 1,0 g de amostra em cápsulas (cadinhos) de porcelana previamente secas em mufla e calcinado a 550 °C durante 4 horas. As cápsulas contendo amostra foram então resfriadas em dessecador e pesadas em balança analítica. Determinou-se o teor de cinzas pela relação entre a massa da amostra após calcinação na mufla e a massa inicial da amostra vezes 100.

3.6.7.3 Lipídeos totais

O teor de gordura bruta foi determinado gravimetricamente após contínua extração das amostras com éter de petróleo em equipamento Soxhlet, segundo método A.O.A.C (1984). Balões de fundo chato de 250 mL foram lavados, secos a 105 °C em estufa, resfriados em dessecador e pesados em balança analítica. O cartucho de extração de

celulose com 3,0 g de amostra foi colocado dentro do tubo de refluxo do Soxhlet e este foi acoplado ao balão. Foi adicionado o solvente éter de petróleo PA (aproximadamente 100 mL) e conectado a um condensador. Este conjunto foi aquecido até a solução tornar-se volátil e mantido a aproximadamente 40 °C. Ao condensar-se, o éter circulou sobre a amostra durante 5 horas, arrastando toda fração gordurosa e demais substâncias solúveis em éter. O éter foi recuperado em outro recipiente, enquanto a gordura extraída, foi seca em estufa a 105 °C por 12 horas, e calculada pela diferença de massas do balão antes e após a extração.

3.6.7.4 *Proteína bruta*

As análises de proteína dos basidiomas foram realizadas através do método macro Kjeldahl de acordo com o A.O.A.C (1984), obtendo-se o teor de nitrogênio total e posteriormente o teor de proteína. Por meio de uma digestão ácida, a 350 °C, com 4,0 g de catalisador (33,3% sulfato de cobre e 66,6% de sulfato de potássio), 25 mL de ácido sulfúrico PA (H₂SO₄) e 0,6 g de amostra, o nitrogênio foi transformado em amônio (NH₄)⁺. A digestão foi interrompida após 3 horas e meia de digestão.

Posteriormente, a solução digerida foi resfriada e adicionada de 150 mL de água, 80 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 40% e uma pedra de Zinco metálico. A solução foi aquecida, e a fração destilada foi recolhida em frasco Erlenmeyer de 250 mL contendo 25mL de solução de ácido sulfúrico 0,1M e 4 gotas (aproximadamente 0,7 mL) de indicador vermelho de metila (CECHI, 2003).

A solução recolhida foi, finalmente, dosada por titulação com NaOH a 0,1N obtendo-se o teor de nitrogênio da amostra.

Todos os procedimentos de digestão, destilação e titulação foram realizados com uma amostra padrão, em ausência de material proveniente do basidioma para correção de qualquer percentual de nitrogênio oriundos dos reagentes.

O percentual de nitrogênio da amostra de basidioma foi, então, calculada pela Eq. 4.

$$N(\%) = \frac{(V_1 - V_2) \times N_1 \times \text{mmN} \times 100}{P \text{ amostra}} \quad (4)$$

Onde:

V_1 = volume de H_2SO_4 utilizado na titulação da amostra contendo basidiomas

V_2 = Volume de NaOH utilizado na titulação da amostra padrão

N_1 = Normalidade do NaOH utilizado na titulação

mmN= Massa molar do Nitrogênio

P amostra= massa de amostra de basidioma analisada

O teor de proteína foi calculado utilizando-se um fator de correção a partir do conteúdo de nitrogênio orgânico presente. O fator comumente utilizado para alimentos de 6,25 despreza quantidades de compostos nitrogenados não proteicos presentes em alimentos e que são, na grande maioria, insignificantes. Os cogumelos, porém, possuem uma quantidade significativa de compostos nitrogenados não proteicos na forma de quitina em suas paredes celulares e tais compostos não são digeríveis. Para não superestimar o conteúdo proteico de cogumelos o fator 4,38 foi adotado, pois esse valor assume que apenas 70% dos compostos nitrogenados existentes no cogumelo sejam digeríveis pelo organismo humano (MILES e CHANG, 1997).

O teor de proteína bruta foi calculado através da multiplicação do teor de nitrogênio total pelo fator de correção de 4,38 segundo a Eq. 5 (MILES e CHANG, 1997).

$$P (\%) = N(\%) \times 4,38 \quad (5)$$

3.6.7.5 Carboidrato total

Os carboidratos totais ou fração nifext (fração livre de nitrogênio), foram determinados pela diferença entre a massa seca total (100%) e a soma das porcentagens, determinadas de proteína, extrato etéreo, cinzas e umidade. A fração livre de nitrogênio representa a concentração de carboidratos totais, excluindo-se a fibra alimentar (SNIFEN *et al.*, 1992; VÉRAS *et al.*, 2005; SILVA; ARCHERI; PEREIRA, 2007).

A Eq. 6, apresenta o cálculo do teor de carboidratos totais (MELLO *et al.*, 2012)

$$CHOt = CHO + FIB = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ lipídios} + \% \text{ proteína}) \quad (6)$$

3.7 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E PRODUTIVO EM BIOMASSA DE *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus djamor* A PARTIR DA ÁGUA RESIDUAL DE BAINHA DE PUPUNHA SECA

Utilizou-se a água de descarte residual, que serviu para a hidratação da pupunha seca na produção de cogumelos pela técnica *Jun-Cao* adaptada, descrita no item 3.6.3, avaliando-se o seu potencial antioxidante e produtivo em biomassa após inoculação do micélio dos cogumelos, utilizando a fração interna e intermediária da bainha da pupunha. O caldo foi recuperado por filtração, sendo testado para o cultivo micelial de *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus djamor*. Erlenmeyers contendo 125 mL de meio, previamente autoclavados, foram inoculados assepticamente com culturas puras e incubados a 25 °C e 120 rpm, em agitador orbital. Após 14 dias de cultivo, os fermentados foram avaliados quanto ao rendimento de biomassa (peso seco).

Para a determinação da atividade antioxidante (método ABTS-TEAC), descrito no item 3.5.2, o caldo dos cultivos foi recuperado por filtração.

Os resultados para o teor de atividade antioxidante e conteúdo proteico foram estatisticamente analisados por ANOVA e Tukey, para um nível de significância de 1% ($P < 0,01$), e para o rendimento de biomassa, nível de significância de 5% ($< 0,05$).

3.8 AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DA BAINHA DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes* Kunth) E DO COMPOSTO RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELO *Pleurotus ostreatus* (CR) COMO CONDICIONADOR DE SOLO NO DESENVOLVIMENTO DE ALFACE (*Lactuca sativa*) cv. Verônica

3.8.1 Obtenção e preparo do resíduo de pupunha e do resíduo do cultivo de *P. ostreatus*

O resíduo oriundo do descascamento (bainha) do estipe de pupunha (R_P) foi obtido conforme descrito no item 3.2.

O resíduo da produção de cogumelo *Pleurotus ostreatus* (R_C), cultivado em bainha de pupunha como substrato micelial, foi coletado imediatamente após o término do segundo ciclo de frutificação dos basidiomas, cultivado sob condições específicas

(SILVA *et al.* 2002; GERN *et al.*, 2010), no laboratório de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná – UFPR.

3.8.2 Solo utilizado

A terra utilizada foi coletada no município de Paranaguá-PR, na mesma localização da obtenção da pupunha. Esta terra pertence à classe Cambissolo Háplico, de textura média (EMBRAPA, 1999).

Também se utilizou composto preparado, da marca “Salto”, para o enriquecimento prévio mínimo da terra utilizada na mistura inicial dos vasos. A terra coletada foi peneirada (malha: 0,5 cm) para homogeneização e separada de fragmentos maiores de matéria orgânica.

3.8.3 Planejamento experimental

As proporções de resíduo (R) adicionado ao solo, nos diversos tratamentos pertinentes, foram estabelecidas em porcentagem, conforme realizado por Ribas *et al.* (2009), considerando-se o peso seco de R_P , seco em estufa a 55 °C, e o peso úmido de R_C , pelo volume de terra nos vasos.

Definiu-se 6 tratamentos (T2-T7), mais o controle (T1), com 20 repetições para cada tratamento, totalizando 140 vasos para cultivo, que representaram os diferentes tipos de R como substrato, nos quais avaliou-se o desenvolvimento das mudas de *L. sativa*. Os substratos foram colocados em vasos plásticos de 1 L, adicionando-se 700 g de terra ou terra/R em cada vaso (solos), conforme Tabela 17.

TABELA 17 - TRATAMENTOS UTILIZADOS PARA ENRIQUECIMENTO DE SOLO COM COMPOSTO RESIDUAL DE PUPUNHA (R_P) E *Pleurotus ostreatus* (R_C).

Tratamentos	Quantidade de componentes/vaso	% Equivalente
T1	500 g de terra 200 g de composto preparado	Solo
T2	465 g de terra 35 g de baidha de pupunha 200 g de composto preparado	Solo + 5% de R_P ¹
T3	430 g de terra 70 g de baidha de pupunha 200 g de composto preparado	Solo + 10% de R_P ¹
T4	395 g de terra 105 g de baidha de pupunha 200 g de composto preparado	Solo + 15% de R_P ¹
T5	465 g de terra 35 g de resíduo de <i>Pleurotus ostreatus</i> 200 g de composto preparado	Solo + 5% de R_C ²
T6	430 g de terra 70 g de resíduo de <i>Pleurotus ostreatus</i> 200 g de composto preparado	Solo + 10% de R_C ²
T7	395 g de terra 105 g de resíduo de <i>Pleurotus ostreatus</i> 200 g de composto preparado	Solo + 15% de R_C ²

¹Percentagem em peso seco de CR_P em relação ao solo.²Percentagem em peso úmido de CR_C em relação ao solo.

Após misturar a terra com diferentes proporções de R para a composição dos solos, conforme cada tratamento, a mistura permaneceu em repouso durante 40 dias (Ribas *et al.* 2009), com regas frequentes, aumentando-se a umidade do substrato, para o período de compostagem e maior estabilização do material.

Os vasos foram mantidos em casa estufa durante o desenvolvimento das mudas (Figura 11).



FIGURA 11 – CULTIVO DE ALFACE NOS VASOS EM ESTUFA APÓS 5 DIAS DE PLANTIO.

3.8.4 Avaliação da fertilidade do solo antes e depois do cultivo *Lactuca sativa*

A análise de rotina do solo nos 7 tratamentos foi realizada no Departamento de Solos e Engenharia Agrícola (DSEA) da Universidade Federal do Paraná-UFPR, na qual avaliou-se: pH em solução de CaCl_2 0,025 M (relação 1:2,5) - acidez ativa; fósforo e potássio disponíveis extraídos por H_2SO_4 0,025 N + HCl 0,05 N; carbono orgânico; cálcio, magnésio, e alumínio trocáveis, extraídos por KCl 1 N; hidrogênio + alumínio trocável (acidez potencial), de acordo com metodologia descrita por Embrapa (1999).

Para o cálculo da matéria orgânica estimada (MO), utilizou-se o valor do carbono orgânico multiplicado por 1,724 (SEGNINI *et al.*, 2008).

3.8.5 *Lactuca sativa* e obtenção das mudas

O cultivar de alface (*Lactuca sativa*) utilizado nos experimentos foi o “Verônica”. Este cultivar do tipo crespa foi selecionado com base nas temperaturas durante o período experimental (outono-inverno), por ser padrão e líder de mercado, com plantas de porte grande, com folhas de coloração verde claro, apresentando alta resistência ao

pendoamento precoce, apresentando semente de coloração preta.

As mudas foram adquiridas da Empresa Agro-Horta Produtos Agropecuários Ltda. (Colombo-PR). As mudas foram mantidas em bandejas com 200 células contendo substrato comercial (Plantmax® HT) vermiculita. A irrigação com solução nutritiva comercial foi intermitente por 15 min a cada 60 min durante o dia e, 1 vez durante a noite.

3.8.6 Local do experimento

Os experimentos foram conduzidos na casa de vegetação do Laboratório de Processos Biotecnológicos no Campus Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, localizada geograficamente a 25°26'55" de longitude oeste e 49°13'50" de latitude sul, com uma altitude de 923,9 metros. O tipo climático é subtropical úmido, Cfb, pela classificação de Köppen, mesotérmico úmido com verões frescos, caracterizados por verões suaves e invernos relativamente frios. A casa-de-vegetação utilizada foi uma estufa do tipo semi-arco com cobertura de polietileno (1,5 mm), nas seguintes dimensões: 5 metros de largura; 10 metros de comprimento; 3,6 metros de altura de pé direito e 5,1 metros de altura da concavidade do arco.

3.8.7 Manejo e acompanhamento

O experimento foi realizado a partir do final de maio de 2013, durante o período de outono-inverno. Durante o experimento foram realizadas regas diárias até a máxima retenção de água de cada substrato. Os vasos foram mantidos em estufa por 63 dias, após as mudas serem transplantadas das bandejas, (20 a 25 dias, apresentando de 2 a 3 folhas e, aproximadamente, 4 a 6 centímetros de altura), tempo adequado para que a alface atingisse seu desenvolvimento máximo (FIGUEIRA, 1982). A avaliação dos parâmetros referentes ao desenvolvimento vegetal foi obtida após a retirada das mudas com 63 dias de crescimento após o transplante.

3.8.8 Avaliação do desenvolvimento de *Lactuca sativa* cultivado no solo adicionado de R_P e R_C

Os parâmetros de desenvolvimento avaliados dos espécimes de *L. sativa* foram: Matéria úmida total para cada tratamento; matéria úmida da parte aérea e das raízes; matéria seca total para cada tratamento; matéria seca da parte aérea e das raízes; número de folhas por planta; comprimento e altura da parte superior e comprimento das raízes (SANTOS *et al.*, 2013).

A determinação da massa fresca das plantas foi realizada individualmente, utilizando uma balança semi-analítica. Para determinação do número de folhas, foram destacadas todas as folhas que apresentaram tamanho maior que 0,03 m da planta e contadas separadamente, e em seguida determinou-se a altura e largura média de cada planta com auxílio de uma régua. A massa seca foi obtida colocando-se as plantas em estufa de circulação forçada, à 65 °C durante 72 h e posteriormente pesadas (LIMA, 2007).

Todos os experimentos estatísticos e as análises foram conduzidos através do software STATISTICA 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DE CRESCIMENTO RADIAL FÚNGICO E ESCOLHA DO MICRORGANISMO ADEQUADO PARA O SUBSTRATO

Os melhores resultados para o crescimento radial foram obtidos com as cepas de *Pleurotus ostreatus* ($1,38 \pm 0,16$ cm/dia) e *Pleurotus djamor* ($1,38 \pm 0,1$ cm/dia) na fração interna da casca de pupunha (pH $6,2 \pm 0,3$). Os demais resultados para a fração foram: *Coprinus comatus* ($0,91 \pm 0,06$ cm/dia), *Pleurotus eryngii* ($0,72 \pm 0,15$ cm/dia) e *Agaricus subrufescens* ($0,49 \pm 0,15$ cm/dia). A cepa de *Ganoderma lucidum* não se desenvolveu no resíduo de pupunha.

Não houve desenvolvimento na fração externa do resíduo de pupunha devido a não tolerância desses fungos à alta acidez (pH $3,21 \pm 0,15$) (Tabela 18), portanto, utilizou-se a fração interna de bainha de pupunha para as demais análises.

TABELA 18 - CRESCIMENTO RADIAL FÚNGICO MÉDIO (CM/DIA) PARA DIFERENTES ESPÉCIES DE COGUMELOS NA FRAÇÃO INTERNA E EXTERNA DA BAINHA DE PUPUNHA*

Fungo	Crescimento Radial (cm/dia)	
	Fração interna	Fração externa
<i>Pleurotus ostreatus</i>	$1,38 \pm 0,16^c$	0
<i>Pleurotus djamor</i>	$1,38 \pm 0,1^c$	0
<i>Coprinus comatus</i>	$0,91 \pm 0,06^b$	0
<i>Pleurotus eryngii</i>	$0,72 \pm 0,15^{ab}$	0
<i>Agaricus subrufescens</i>	$0,49 \pm 0,15^a$	0
<i>Ganoderma lucidum</i>	0^d	0

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pela ANOVA/ Tukey ($p < 0,05$), com base em 3 repetições, valores expressos em médias seguido pelo desvio padrão.

4.2 FATORES SIGNIFICATIVOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE *Pleurotus djamor* NA FRAÇÃO LÍQUIDA DA BAINHA DE PUPUNHA EM RELAÇÃO A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, QUANTIDADE PROTEICA E DE BIOMASSA NA FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA

Com as melhores cepas (*Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus djamor*), avaliou-se o efeito do crescimento microbiano na fração líquida interna de bainha da pupunha (pH $5,89 \pm 0,2$), bem como sua suplementação com outros compostos, ao longo do tempo, quanto a sua quantidade proteica e de biomassa, atividade antioxidante e frutificação em fermentação micelial submersa por *Pleurotus djamor* para diferentes tratamentos (Tabela 19).

TABELA 19 – DESENVOLVIMENTO MICELIAL SUBMERSO DE *Pleurotus djamor* NA FRAÇÃO LÍQUIDA INTERNA DA BAINHA DE PUPUNHA EM RELAÇÃO A QUANTIDADE PROTEICA E DE BIOMASSA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FRUTIFICAÇÃO

Ensaio	Conc.	Gluc.	Ext. de Lev.	CuSO ₄	ZnSO ₄	t.	Biom.	Prot.	TEAC	Frut.
	(%)	(g/L)	(g/L)	(μ M)	(μ M)	(dias)	(g/L)	(mg/mL)	(μ M Trolox/ % de extrato)	(unid.)
1	80	0	4	0	0	14	1,7755	2,245	1,981	5
2	80	10	0	100	0	7	1,766	2,956	1,011	2
3	20	10	4	0	100	7	1,3169	2,419	4,097	0
4	80	0	4	100	0	7	1,5813	3,626	2,362	5
5	80	10	0	100	100	14	1,7135	2,136	-1,933	3
6	80	10	4	0	100	7	1,6551	3,682	2,098	3
7	20	10	4	100	0	14	1,4653	0,975	5,198	0
8	20	0	4	100	100	14	1,3774	0,782	4,764	0
9	20	0	0	100	100	7	1,4699	0,489	-1,645	0
10	80	0	0	0	100	14	1,668	2,262	-0,824	4
11	20	10	0	0	0	14	1,516	0,834	-2,829	1
12	20	0	0	0	0	7	1,4109	0,605	-2,94	0
13	50	5	2	50	50	11	1,4356	1,537	-1,063	3
14	50	5	2	50	50	11	1,4858	2,54	-1,121	3
15	50	5	2	50	50	11	1,4832	1,765	-1,064	2

Com o auxílio de um diagrama do tipo Pareto foi possível analisar a um nível de 5% de significância ($p \leq 0,05$) os efeitos das variáveis estudadas sobre o aumento da quantidade proteica e de biomassa, atividade antioxidante e frutificação.

Analisando-se os resultados, observou-se que o fator mais significativo para o aumento da concentração proteica, quantidade de biomassa e frutificação no meio fermentado por *Pleurotus djamor* foi a concentração de substrato de pupunha (80%) (Figuras 12, 13 e 14). A adição de extrato de levedura resultou em um produto com concentração proteica e atividade antioxidante mais alta. Houve decréscimo significativo na concentração proteica ao longo do período de cultivo (Figura 15). As variáveis glucose, sulfato de cobre (CuSO_4) e sulfato de zinco (ZnSO_4) não apresentaram significância dentro das faixas estudadas, o que pode representar um menor custo de bioprocesso, principalmente pelo fato da quantidade de fração líquida de pupunha ser um resíduo, tornando-se um dos fatores mais relevantes economicamente em um bioprocesso em escala industrial (RODRIGUES, 2010).

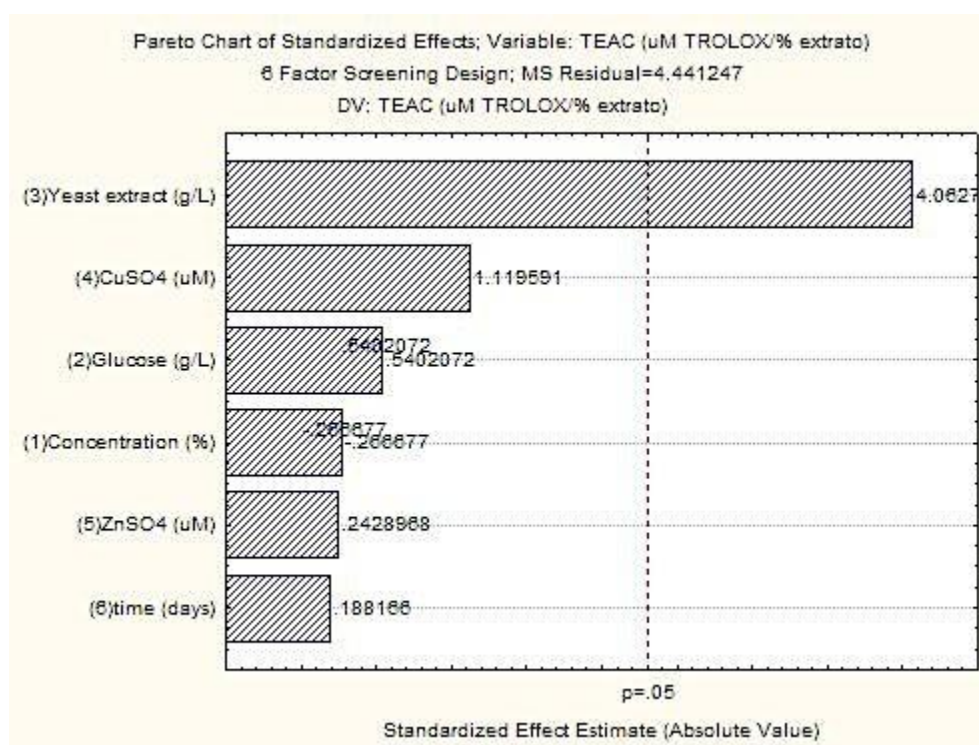


FIGURA 12 – DIAGRAMA DE PARETO PARA SIGNIFICÂNCIA DE PRODUÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EXPRESSOS EM MG/ML DE TEAC (ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EQUIVALENTE AO TROLOX) NA FRAÇÃO LÍQUIDA INTERNA DE PUPUNHA EM FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA POR *Pleurotus djamor* EM 14 DIAS. COMPARAÇÕES: ANOVA/TUKEY ($P < 0,05$)

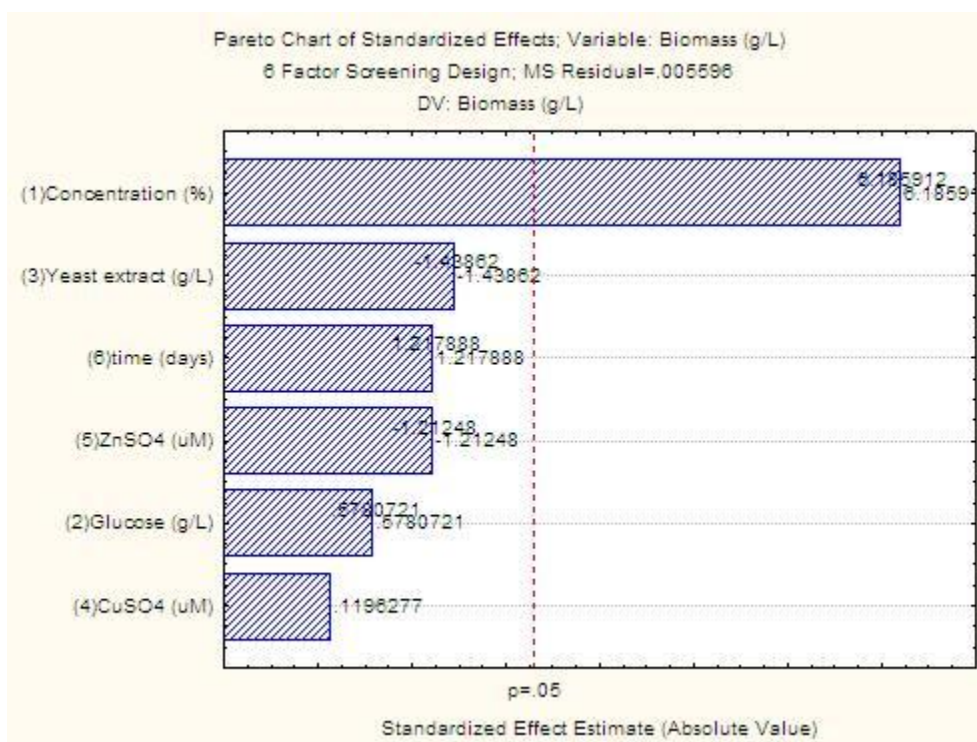


FIGURA 13 – DIAGRAMA DE PARETO PARA SIGNIFICÂNCIA DE PRODUÇÃO DE BIOMASSA EXPRESSO EM G/L NA FRAÇÃO LÍQUIDA INTERNA DE PUPUNHA EM FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA POR *Pleurotus djamor* EM 14 DIAS. COMPARAÇÕES: ANOVA/TUKEY (P<0,05)

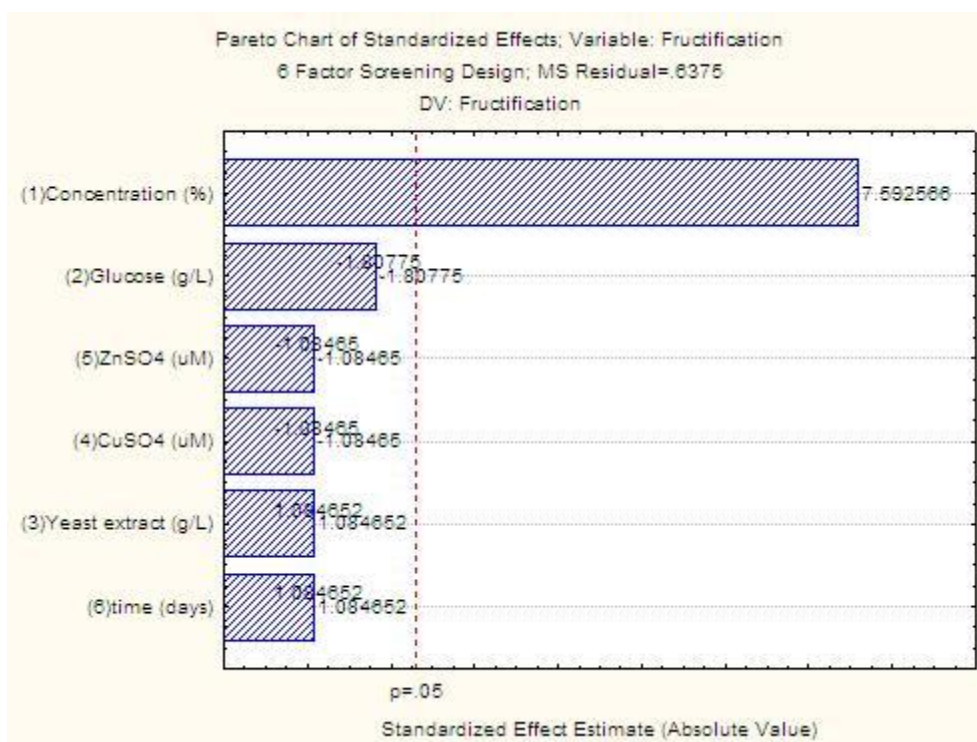


FIGURA 14 – DIAGRAMA DE PARETO PARA SIGNIFICÂNCIA DE FRUTIFICAÇÃO DO MICÉLIO NO CALDO DE PUPUNHA EM FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA POR *Pleurotus djamor* EM 14 DIAS. COMPARAÇÕES: ANOVA/TUKEY (P<0,05)

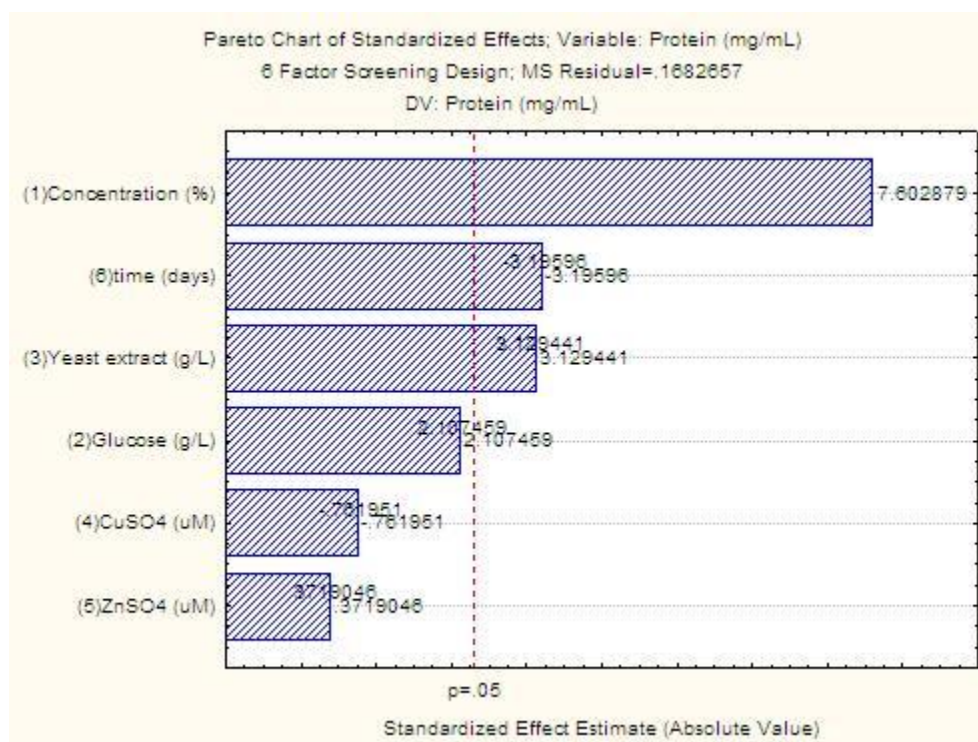


FIGURA 15 – DIAGRAMA DE PARETO PARA SIGNIFICÂNCIA DE PRODUÇÃO DE PROTEÍNA EXPRESSO EM MG/ML NA FRAÇÃO LÍQUIDA INTERNA DE PUPUNHA EM FERMENTAÇÃO MICELIAL SUBMERSA POR *Pleurotus djamor* EM 14 DIAS. COMPARAÇÕES: ANOVA/TUKEY (P<0,05)

4.3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PARA A CULTURA DE COGUMELOS COMESTÍVEIS UTILIZANDO BAINHA DE PUPUNHA, SUBMETIDOS A FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO, PELA TÉCNICA *JUN-CAO*, BEM COMO OS FATORES SIGNIFICATIVOS PARA O DESENVOLVIMENTO DO *Pleurotus ostreatus*

4.3.1 Comportamento fisiológico

Analisando o perfil biológico de *Pleurotus ostreatus* no primeiro ciclo de frutificação (Tabela 20), de uma maneira geral, os ensaios que continham menor quantidade de furos no pacote, apresentaram um início de formação de primórdios mais demorado quando comparado aos demais. O aumento do número de furos no pacote (4 furos) propiciou a precocidade na frutificação do substrato por possibilitar aumento de trocas gasosas, resultando na diminuição de CO₂ e aumento de O₂ no interior dos pacotes.

Observou-se que nem todos os furos realizados no pacote contendo substrato com micélio resultaram em basidiomas. Os cogumelos se desenvolveram em dimensões

semelhantes.

TABELA 20 – PERFIL BIOLÓGICO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA NO PRIMEIRO FLUXO DE PRODUÇÃO

Ensaio	CM	IFPM	Frutif.	Furos frutif.	Dimen. total do cogumelo			Dimen. do píleo
					<u>Largura</u>	<u>Altura</u>	<u>Comprimento</u>	
		(dias)		(unid.)	(cm)			
1	33	5-6	3	2-3	9,8	10,3	6,3	4,6
2	33	6-8	2	1-2	12,2	10	8,8	5,8
3	33	4-6	2-4	1-2	10,6	13,4	7,1	5,0
4	33	5-8	2	1-2	9,6	9,8	7,7	3
5	33	5-7	2-3	1-3	10,7	9,0	6,4	4,7
6	33	4-5	2-3	2-3	12	11,8	7,1	4,8
7	33	4-6	2-4	1-3	12,5	10,7	4,2	6,1

CM: Corrida micelial; IFPM: Início de formação dos primórdios; Frutif: frutificação. Ensaios: 1 (10% e 4 furos); 2 (10% e 2 furos); 3 (40% e 4 furos); 4 (40% e 2 furos); 5, 6 e 7 (25% e 3 FUROS).

Analisando o perfil biológico de *Pleurotus ostreatus* no segundo ciclo de frutificação (Tabela 21), observou-se um aumento no tempo do início da formação de primórdios e diminuição na quantidade de formação de basidiomas, provavelmente devido à perda de alguns compostos no substrato, como minerais, lignina, celulose e a alteração da composição do ar no interior do pacote. O período de frutificação foi maior nos ensaios contendo 10% de inóculo e menor nos ensaios contendo 40% de inóculo, relacionando maior velocidade de frutificação com maior quantidade de inóculo. A dimensão dos cogumelos no segundo ciclo, foi maior para os ensaios que não se desenvolveram tão bem no primeiro ciclo de frutificação, o que demonstra que cogumelos que se desenvolvem bem na primeira frutificação, tem seu desenvolvimento reduzido na segunda frutificação e vice-versa.

TABELA 21 – PERFIL BIOLÓGICO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA NO SEGUNDO FLUXO DE PRODUÇÃO

Ensaio	IFPM	Frutif.	TTC	Furos frutif.	Dimen. total do cogumelo			Dimen. do píleo
	(dias)			(unid.)	Largura	Altura	Comprimento	
1	9-12	3-4	52-58	1-2	14,4	9,2	10,7	13,7
2	5-8	3-4	50-54	1	13,7	11,3	8,9	9,5
3	7-12	1	54-56	1	12,3	10,2	7,9	8,4
4	9-12	1	53-55	1	14,5	9,4	7,8	6,8
5	9	2-3	53-56	2-3	10,3	6,2	6,1	5,4
6	7-9	3	50-51	3	9,8	8,2	8	7,9
7	9-11	2	53-21	1	11,8	7,7	8,5	8,6

CM: Corrida micelial; IFPM: Início de formação dos primórdios; Frutif: frutificação. Ensaio: 1 (10% e 4 furos); 2 (10% e 2 furos); 3 (40% e 4 furos); 4 (40% e 2 furos); 5, 6 e 7 (25% e 3 FUROS).

4.3.2 Avaliação dos parâmetros produtivos

Na Tabela 22, é possível observar os valores de EB e P, no primeiro e segundo ciclo de frutificação.

Os resultados para cada variável dependente com seus respectivos coeficientes de determinação são apresentados na Tabela 23. As análises estatísticas indicaram que os modelos propostos foram adequados (Tabela 24, apresentando falta de ajuste significativa apenas para EB ($p=0,005470$) no primeiro ciclo de frutificação e com valores satisfatórios de R^2 para EB e P, no primeiro e segundo ciclo de frutificação, com valores de 0,8586; 0,8637; 0,9933 e 0,9364, respectivamente.

TABELA 22 – DADOS EXPERIMENTAIS E VALORES RESPOSTA OBSERVADOS COM DIFERENTES COMBINAÇÕES DE FRAÇÃO DE INÓCULO E NÚMERO DE FUROS PARA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) E PRODUTIVIDADE (P) NA PRIMEIRA E SEGUNDA FRUTIFICAÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM RESÍDUO DE PUPUNHA

Ensaio	Variáveis independentes		Variáveis dependentes			
	X ₁	X ₂	1ª Frut.		2ª Frut.	
			EB*	P*	EB*	P*
1	10 (-1)	4 (+1)	46,75 (±6,01)	12,72 (±3,64)	36,867 (±3,84)	15,979 (±1,15)
2	10 (-1)	2 (-1)	54,8 (±1,56)	14,645 (±3,02)	34,605 (±0,68)	10,382 (±0,20)
3	40 (+1)	4 (-1)	50,414 (±1,15)	16,59 (±2,61)	37,229 (±3,93)	10,185 (±1,18)
4	40 (+1)	2 (-1)	52,877 (±5,72)	15,863 (±1,68)	21,179 (±3,98)	6,353 (±0,29)
5	25 (0)	3 (0)	53,263 (±3,08)	15,979 (±1,68)	31,627 (±0,68)	9,488 (±0,27)
6	25 (0)	3 (0)	53,022 (±3,10)	15,907 (±0,92)	31,473 (±0,58)	9,442 (±0,20)
7	25 (0)	3 (0)	53,079 (±3,11)	15,04 (±0,21)	31,99 (±0,76)	11,4 (±0,39)

Ensaio: 1 (10% e 4 furos); 2 (10% e 2 furos); 3 (40% e 4 furos); 4 (40% e 2 furos); 5, 6 e 7 (25% e 3 furos). X1 – Fração de inóculo (% em peso seco), X2 – Número de furos (unidade). Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

* (%)

De acordo com os modelos, para a EB os termos lineares da fração de inóculo e número de furos (X₁, p<0,05) e a interação fração de inóculo e número de furos (X₁₂, p<0,05) apresentaram diferença estatisticamente significativa tanto no primeiro quanto no segundo ciclo de frutificação. Para a produtividade, apenas o número de furos no pacote apresentou influência significativa (X₁, p<0,05). Os demais termos não significativos foram mantidos para a melhoria do ajuste.

TABELA 23 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA), ERRO PURO, FALTA DE AJUSTE E COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA EQUAÇÃO POLINOMIAL DE SEGUNDA ORDEM PARA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) E PRODUTIVIDADE (P) NA PRIMEIRA E SEGUNDA FRUTIFICAÇÃO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA **

Coeficiente de regressão		1ª frutificação*		2ª Frutificação*	
		EB	P	EB	P
Intercessão	β_0	39,3357	7,6190	32,3329	23,9628
linear	β_1	0,4546	0,1525	0,3842	-0,2454
	β_2	2,7629	2,3770	2,4786	-3,1909
Interação	β_{12}	-0,0931	-0,0442	-0,2298	0,0294
	R^2	0.8586	0.8637	0.9933	0.9374
Erro puro		0.0325	0.2729	0.0705	1,2486
Falta de ajuste		0.0055	0.2271	0.0624	0.5461

Ensaios: 1 (10% e 4 furos); 2 (10% e 2 furos); 3 (40% e 4 furos); 4 (40% e 2 furos); 5, 6 e 7 (25% e 3 furos).

* (%)

** Nível de significância de 5%.

TABELA 24 – DADOS EXPERIMENTAIS E VALORES DE RESPOSTA OBSERVADOS E PREDITOS COM DIFERENTES COMBINAÇÕES DE FRAÇÃO DE INÓCULO E NÚMERO DE FUROS PARA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) E PRODUTIVIDADE (P) NA PRIMEIRA E SEGUNDA FRUTIFICAÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM RESÍDUO DE PUPUNHA

Ensaio	Fi	Nf	1ª Frutificação				2ª Frutificação			
			EB		P		EB		P	
			Obs.	Pred.	Obs.	Pred.	Obs.	Pred.	Obs.	Pred.
1	10	4	46,75	47,54	12,72	13,33	36,87	36,54	15,98	15,72
2	10	2	54,80	55,59	14,64	15,25	34,61	34,27	10,38	10,12
3	40	4	50,41	51,21	14,88	15,48	37,23	36,90	10,19	9,92
4	40	2	52,88	53,67	15,86	16,47	21,18	20,85	6,35	6,09
5	25	3	53,26	52,00	15,98	15,13	31,63	32,14	9,49	10,46
6	25	3	53,02	52,00	15,91	15,13	31,47	32,14	9,44	10,46
7	25	3	52,91	52,00	15,93	15,13	31,99	32,14	11,40	10,46

Fi: Fração de Inóculo; Nf: Número de Furos. Ensaios: 1 (10% e 4 furos); 2 (10% e 2 furos); 3 (40% e 4 furos); 4 (40% e 2 furos); 5, 6 e 7 (25% e 3 furos).

Segundo Rajarathnam e Bano (1987), a maior perfuração em sacos de cultivo de cogumelos, promove maior velocidade de colonização do substrato, influenciando na eficiência biológica e na produtividade de *Pleurotus* spp.

Analisando-se as superfícies de resposta, verificou-se que no primeiro ciclo de frutificação o aumento na fração de inóculo com um menor número de furos no pacote tende a aumentar a EB. Em relação a produtividade, apenas o aumento no número de furos foi estatisticamente significativo no desenvolvimento do fungo (Figura 16 A e B, respectivamente), demonstrando que quanto maior o número de furos, maior a

produtividade.

De acordo com Schulz *et al.* (2013), a EB, quando comparada a P, se torna um parâmetro mais preciso por relacionar a massa de basidiomas secos e a massa de substrato seco, não havendo a interferência da umidade. Essa relação não foi observada nesse experimento, o qual demonstrou que valores de R^2 para os modelos de P (0,8637 e 0,9364) foram muito semelhantes aos de EB (0,8586 e 0,9933).

Os resultados quanto ao aumento na fração de inóculo para uma maior EB são condizentes com os estudos de Duprat (2012), utilizando folhas de pupunha (5, 10 e 20%) suplementada com farelo de arroz (2, 5 e 10%) na produção de *Pleurotus ostreatus*, o qual verificou que a melhor condição de cultivo para a EB foi a que utilizava maior quantidade de inóculo e farelo de arroz (20 e 10%, respectivamente). Seus resultados foram inconclusivos para o P.

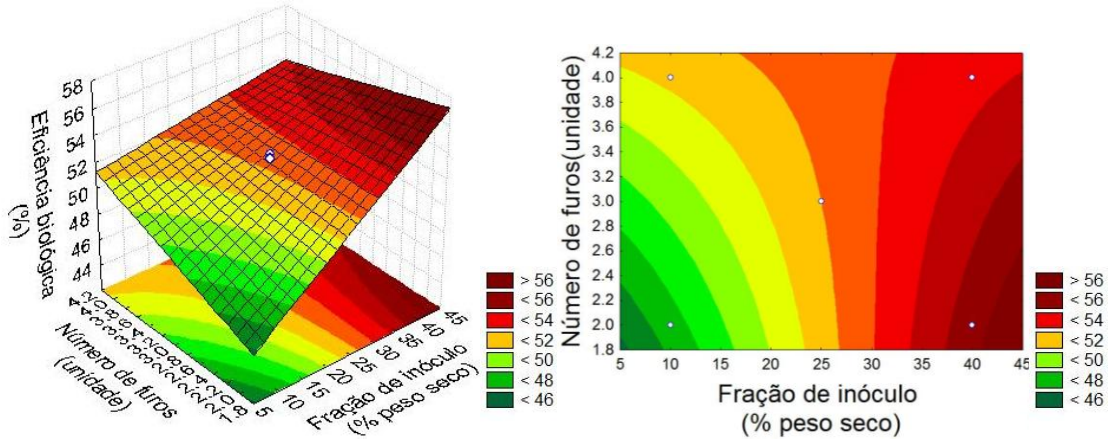
Schulz *et al.* (2013) também verificaram em seus estudos na produção de *Pleurotus sajor-caju* CCB 019 com folhas de pupunha (5, 10 e 20%), suplementado com farelo de arroz (2, 5 e 10%), que a EB apresentou maiores valores quando a fração de inóculo e a fração de farelo de arroz utilizada foi 20 e 10%, respectivamente.

Os furos no pacote propiciaram maior troca gasosa, havendo liberação de CO_2 acumulado e aumento na concentração de O_2 no interior do pacote. Essa mudança ambiental, estimulou o desenvolvimento do micélio para basidiomas, observando-se que a variável significativa para a primeira frutificação é o maior número de furos realizados.

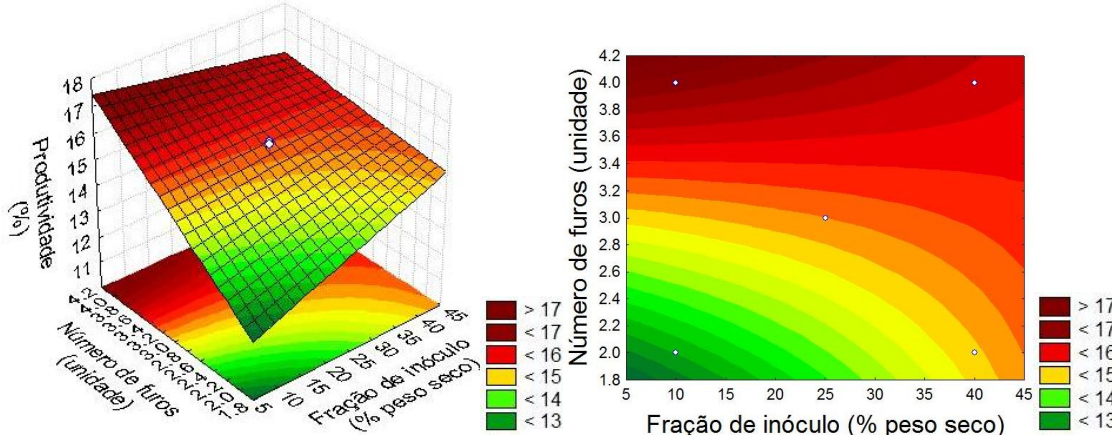
No segundo ciclo de frutificação, verificou-se que uma menor quantidade de inóculo com maior número de furos, possibilitou maior EB (Figura 16 C e D, respectivamente). A menor quantidade de inóculo e número de furos possibilitou maior P, demonstrando que quanto maior a EB ou P no primeiro ciclo de frutificação, menor será no segundo ciclo de frutificação.

Verifica-se que a EB e a P, podem variar não só de acordo com o substrato analisado mas também com os fatores em que o processo ocorre, como a fração de inóculo e quantidade de furos (aeração) nos pacotes de cultivo.

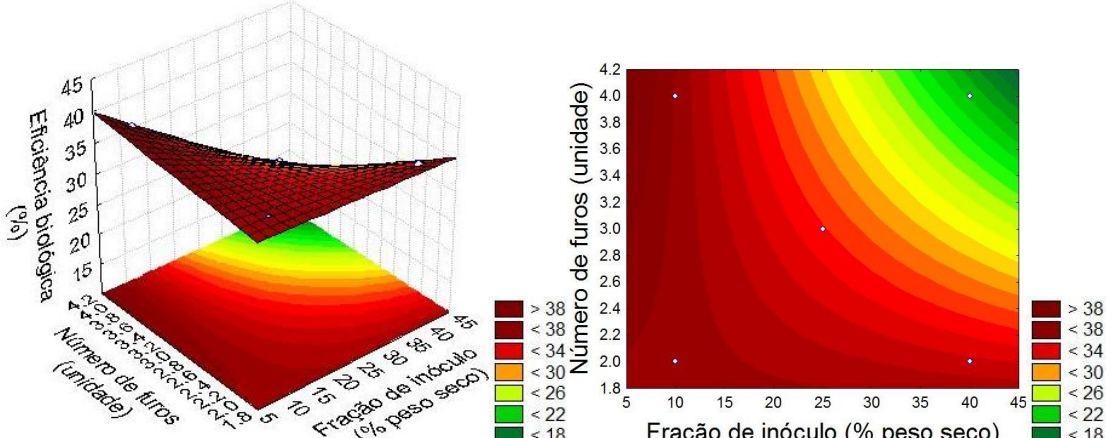
A



B



C



D

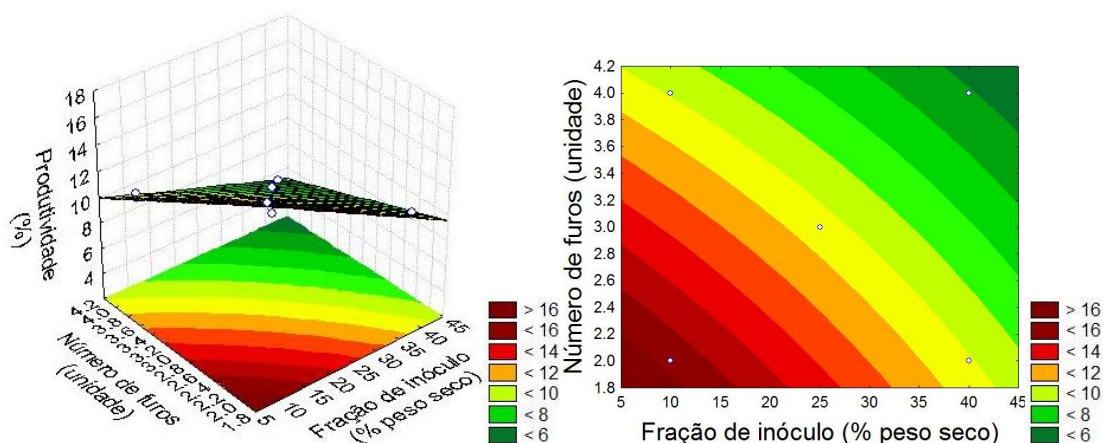


FIGURA 16 – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E DE CONTOURNO PARA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) E PRODUTIVIDADE (P) NA PRIMEIRA FRUTIFICAÇÃO (A E B, RESPECTIVAMENTE) E SEGUNDA FRUTIFICAÇÃO (B E C, RESPECTIVAMENTE) EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE FUROS E DA QUANTIDADE DE INÓCULO NOS PACOTES PARA PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus*.

4.3.3 Análises Físico-Químicas

As variáveis fração de inóculo e número de furos não influenciaram significativamente ($p < 0,05$) na composição em nutrientes dos basidiomas para umidade, cinzas e lipídeos, para cada experimento do planejamento fatorial 2^2 (Tabela 25).

TABELA 25 - COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE *Pleurotus ostreatus*, UTILIZANDO BAINHA DE PUPUNHA COMO SUBSTRATO, EXPRESSO EM PORCENTAGEM EM BASE SECA*

Umidade	Matéria seca	Cinzas	Lipídeos
90,02	9,98	6,52	3,10
($\pm 1,80$)	($\pm 1,80$)	($\pm 0,65$)	($\pm 0,31$)

Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

* [g(100⁻¹)]

Analisando os dados apresentados, verifica-se que a concentração desses nutrientes independe da quantidade de inóculo ou do número de furos apresentando 90,02 [g(100⁻¹)] de umidade; 9,98 [g(100⁻¹)] em peso seco, 6,52 [g(100⁻¹)] de cinzas e 3,10 [g(100⁻¹)] de lipídeos.

Os valores estão de acordo com os encontrados por Duprat (2012) para os basidiomas cultivados em bainha de pupunha, com valores de 89,6 [g(100⁻¹)] de umidade; 5,35 [g(100⁻¹)] de cinzas e 2,43 [g(100⁻¹)] de lipídeos. Estes valores também estão semelhantes aos citados por Ragunathan *et al.* (2003) e Urben (2011).

Ao analisar a quantidade de proteínas e carboidratos totais, verificou-se diferença significativa em função das variáveis (Figura 17), principalmente, pela interação das variáveis fração de inóculo e número de furos inóculo, responsável pelo aumento da quantidade de proteínas, e carboidratos totais.

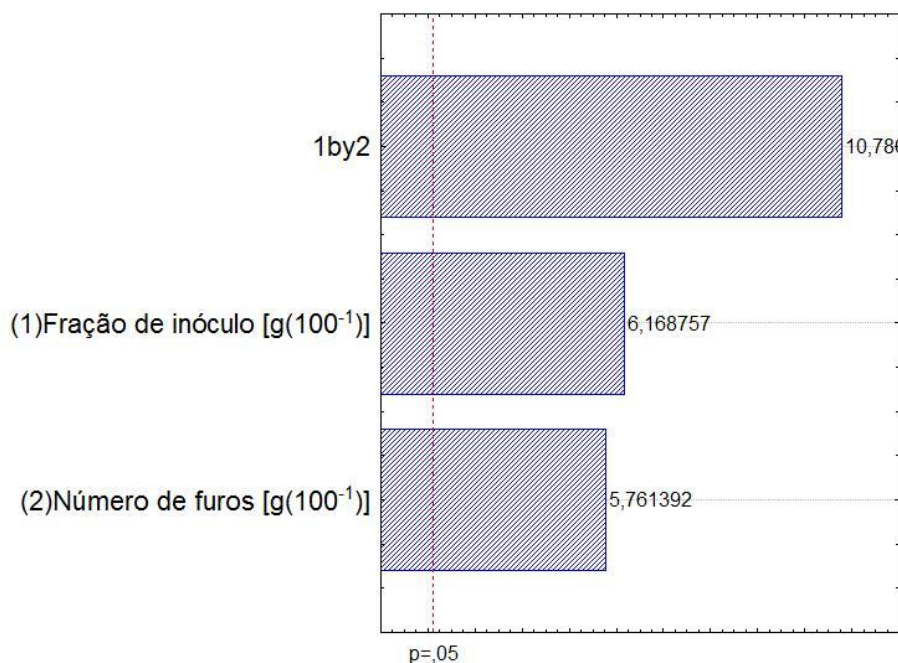


FIGURA 17 – GRÁFICO DE PARETO PARA QUANTIDADE DE PROTEÍNAS EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE FUROS E QUANTIDADE DE INÓCULO NOS PACOTES PARA PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA.

Os teores de proteínas encontrados nos cogumelos cultivados em baina de pupunha sob diferentes condições de inoculação e número de furos no pacote variaram entre 14,22 [g(100⁻¹)] e 18,84 [g(100⁻¹)] (Tabela 26), e estão de acordo com o relatado por Duprat (2012) para os basidiomas cultivados em baina de pupunha, apresentando 19,32 [g(100⁻¹)] e com Urban (2011), apresentando 10,5-30,4 [g(100⁻¹)].

TABELA 26 – DADOS EXPERIMENTAIS E VALORES DE RESPOSTA OBSERVADOS COM DIFERENTES COMBINAÇÕES DE FRAÇÃO DE INÓCULO E NÚMERO DE FUROS PARA QUANTIDADE DE PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS TOTAIS NOS BASIDIOMAS DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM RESÍDUO DE PUPUNHA

Ensaio	Variáveis independentes		Variáveis dependentes	
	X ₁	X ₂	Proteínas [g(100g ⁻¹)]	Carboidratos totais [g(100g ⁻¹)]
1	10 (-1)	4 (+1)	15,56 (±0,86)	15,59 (±2,34)
2	10 (-1)	2 (-1)	14,32 (±0,26)	19,02 (±0,12)
3	40 (+1)	4 (-1)	14,22 (±0,13)	14,25 (±0,79)
4	40 (+1)	2 (-1)	18,76 (±0,62)	18,79 (±0,60)
5	25 (0)	3 (0)	16,84 (±0,37)	16,91 (±0,55)
6	25 (0)	3 (0)	17,21 (±0,36)	16,91 (±0,33)
7	25 (0)	3 (0)	16,84 (±0,37)	16,91 (±0,58)

Ensaio: 1 (10% e 4 furos); 2 (10% e 2 furos); 3 (40% e 4 furos); 4 (40% e 2 furos); 5, 6 e 7 (25% e 3 furos). X₁ – Fração de inóculo (% em peso seco), X₂ – Número de furos (unidade). Valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

* (%)

Os resultados para cada variável dependente com seus respectivos coeficientes de determinação são apresentados na Tabela 27. As análises estatísticas indicaram que o modelo proposto para a quantidade de proteína foi adequado (Tabela 28), porém a quantidade de proteínas e carboidratos totais apresentou falta de ajuste ($p=0,000015$ e $0,0391$) no primeiro ciclo de frutificação e com valores satisfatórios de R^2 para proteínas e carboidratos totais, com valores de $0,9338$ e $0,7361$, respectivamente.

De acordo com os modelos, para as proteínas os termos lineares da fração de inóculo e número de furos (X_1 , $p<0,05$) e a interação fração de inóculo e número de furos (X_{12} , $p<0,05$) apresentaram diferença estatisticamente significativa. Para a quantidade de carboidratos totais, apenas a fração de inóculo apresentou influência estatisticamente significativa (X_1 , $p<0,05$). Os demais termos não significativos foram mantidos para a melhoria do ajuste.

TABELA 27 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA), ERRO PURO, FALTA DE AJUSTE E COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA EQUAÇÃO POLINOMIAL DE SEGUNDA ORDEM PARA QUANTIDADE DE PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS TOTAIS NA EM BASIDIOMAS DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA**

Coeficiente de regressão		Proteínas [g(100g ⁻¹)]*	Carboidratos totais [g(100g ⁻¹)]*
Intercessão linear	β_0	19,77738	78,5524
	β_1	-0,23386	-0,2299
	β_2	-1,63595	-0,4890
Interação	β_{12}	0,09633	0,0290
	R^2	0,7798	0,7362
	Erro puro	0,2212	0,9896
	Falta de ajuste	0,2156	0,0391

Ensaios: 1 (10% e 4 furos); 2 (10% e 2 furos); 3 (40% e 4 furos); 4 (40% e 2 furos); 5, 6 e 7 (25% e 3 furos).

* (%)

** Nível de significância de 5%.

TABELA 28 – DADOS EXPERIMENTAIS E VALORES DE RESPOSTA OBSERVADOS E PREDITOS COM DIFERENTES COMBINAÇÕES DE FRAÇÃO DE INÓCULO E NÚMERO DE FUROS PARA EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB) E PRODUTIVIDADE (P) NA PRIMEIRA E SEGUNDA FRUTIFICAÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM RESÍDUO DE PUPUNHA

Ensaio	Fi	Nf	Proteínas [g(100g ⁻¹)]		Carboidratos totais [g(100g ⁻¹)]	
			Obs.	Pred.	Obs.	Pred.
1	10	4	15,56	16,09	5,20	1,73
2	10	2	14,32	14,86	6,34	2,11
3	40	4	14,22	14,75	4,75	1,58
4	40	2	18,76	19,29	6,26	2,09
5	25	3	16,84	16,25	5,64	1,88
6	25	3	17,21	16,25	5,64	1,88
7	25	3	16,84	16,25	5,64	1,88

Fi: Fração de Inóculo; Nf: Número de Furos. Ensaios: 1 (10% e 4 furos); 2 (10% e 2 furos); 3 (40% e 4 furos); 4 (40% e 2 furos); 5, 6 e 7 (25% e 3 furos).

Analisando-se a superfície de resposta, verificou-se que o aumento da fração de inóculo e do número de furos foi o principal responsável pelo aumento da quantidade de proteínas e diminuição dos carboidratos totais (Figura 18 A e B, respectivamente), demonstrando que quanto maior a quantidade de proteínas, menor a quantidade de carboidratos totais.

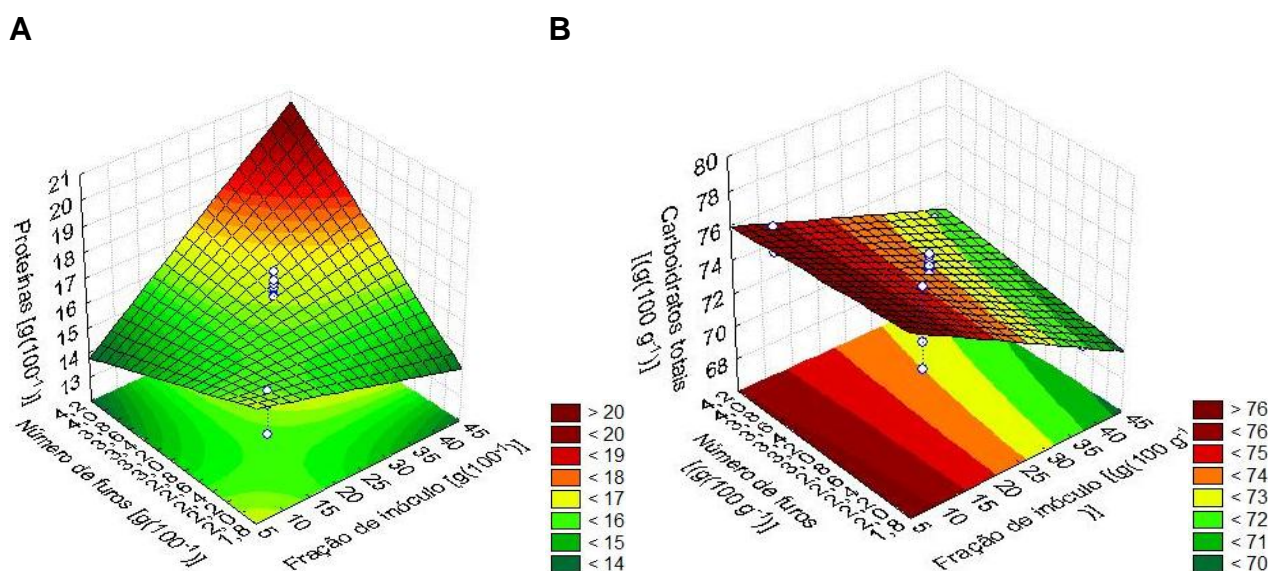


FIGURA 18 – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA QUANTIDADE DE PROTEÍNAS (A) E CARBOIDRATOS TOTAIS (B) EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE FUROS E DA QUANTIDADE DE INÓCULO NOS PACOTES PARA PRODUÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EM BAINHA DE PUPUNHA.

Compreender o impacto do substrato sobre a produtividade e qualidade do cogumelo é um fator importante para determinar a combinação da composição do substrato adequado e a fração de inóculo para a ocorrência da bioconversão, de maneira eficaz, em um alimento nutritivo/medicinal. Diversas pesquisas tem apontado vários fatores para o aumento na EB de cogumelos.

Alborés (2006) e Philippoussis *et al.* (2007) relatam que o conteúdo de carbono e nitrogênio do substrato influenciam na precocidade da frutificação, da produtividade e das taxas de crescimento micelial em *Pleurotus* spp. Investigações sobre o impacto dos constituintes do substrato sobre o crescimento micelial e produção de cogumelos demonstram que ambos são afetadas pela proporção de celulose, lignina e hemicelulose ($R^2=0,78$), juntamente com teor de nitrogênio do substrato de cultivo ($R^2=0,99$) (OBODAI, 2003; PHILIPPOUSSIS *et al.*, 2003).

Elisashvili (2008), Baldrian; Val'a'skov'a (2008), Baldian (2005) e Gaitán-Hernández *et al.* (2011) revelam que fungos, durante o crescimento vegetativo, produzem uma ampla quantidade de enzimas para degradar os substratos e que o tipo e a composição do substrato lignocelulósico determinam o tipo e a quantidade de enzima produzida pelos basidiomicetos durante o crescimento vegetativo. Acredita-se que o aumento na capacidade de síntese de proteínas esteja relacionado com o aumento da produção de enzimas pela maior quantidade de inóculo.

Na literatura são escassas informações sobre o emprego de diferentes frações de inóculo e principalmente o número de furos ou a quantidade de aeração necessária no aumento do processo de EB, P e de quantidade de proteínas. Isto mostra que são

necessários estudos para compreender a dinâmica de biodegradação de substratos lignocelulíticos em condições controladas de temperatura, umidade e pH.

Os resultados aqui expostos demonstram a possibilidade de desenvolver novos produtos, mais especificamente cogumelos com conteúdo nutricional incrementado, simplesmente manipulando-se a composição do meio e ajustando os procedimentos de cultivo. Esta grande capacidade metabólica de aumento de proteínas e carboidratos totais pode impulsionar outras pesquisas para esclarecimento dos mecanismos de degradação utilizados por fungos degradadores de madeira (MACEDO, 2006).

4.4 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E PRODUTIVO EM BIOMASSA A PARTIR DA ÁGUA DE HIDRATAÇÃO RESIDUAL DO SUBSTRATO SECO (PUPUNHA)

Durante o processo de umidificação da pupunha seca, na qual o material ficou imerso em água até umidade em torno de 70%, descartou-se o excesso de água. Aproveitou-se essa água de hidratação, inoculando-a com *Pleurotus djamor* e *Pleurotus ostreatus*, por 14 dias de fermentação, verificando seu potencial antioxidante, proteico e produtivo em biomassa, conforme apresentado nas Figuras 19 e 20.

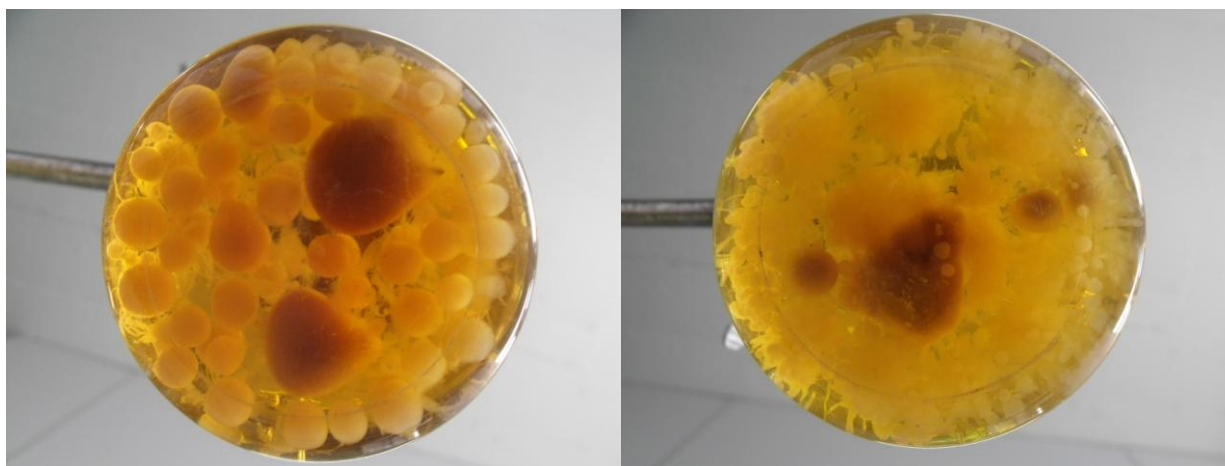


FIGURA 19 – ASPECTO VISUAL INFERIOR DE ERLLENMEYER CONTENDO CULTIVO MICELIAL SUBMERSO DE *Pleurotus djamor* (ESQUERDA) E *Pleurotus ostreatus* (DIREITA) NA FRAÇÃO INTERNA DO RESÍDUO DE PUPUNHA APÓS 14 DIAS DE FERMENTAÇÃO.

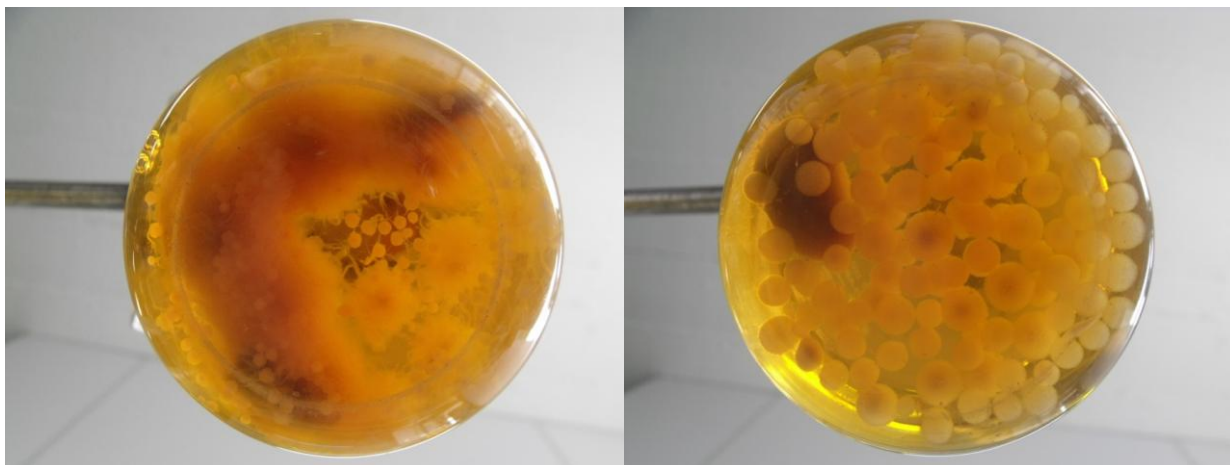


FIGURA 20 – ASPECTO VISUAL INFERIOR DE ERLLENMEYER CONTENDO CULTIVO MICELIAL SUBMERSO DE *Pleurotus djamor* (ESQUERDA) E *Pleurotus ostreatus* (DIREITA) NA FRAÇÃO INTERMEDIÁRIA DO RESÍDUO DE PUPUNHA APÓS 14 DIAS DE FERMENTAÇÃO.

A água de hidratação residual fermentada por *Pleurotus djamor* e *Pleurotus ostreatus* na fração interna de bainha de pupunha apresentou maior atividade antioxidante em relação aos cultivos *Pleurotus djamor* e *Pleurotus ostreatus* ($p < 0,05$) na fração intermediária. O rendimento de biomassa não variou significativamente em função da cepa ou da fração do resíduo utilizada como substrato ($p < 0,01$) (Tabela 29).

TABELA 29 – RENDIMENTO EM BIOMASSA E ANTIOXIDANTE NA AGUA DE HIDRATAÇÃO RESIDUAL FERMENTADA POR *Pleurotus djamor* E *Pleurotus ostreatus* NAS BAINHAS DA PARTE DE DENTRO E DO MEIO DA PUPUNHA*

Fração da pupunha	Biomassa (g/L)	Antioxidante ($\mu\text{g/mL}$ de TEAC)
<i>Pleurotus ostreatus</i>		
Meio	$2,57 \pm 0,54^a$	$0,28 \pm 0,09^a$
Dentro	$2,22 \pm 0,32^a$	$0,5 \pm 0,2^{ab}$
<i>Pleurotus djamor</i>		
Meio	$2,42 \pm 0,04^a$	$0,22 \pm 0,07^a$
Dentro	$2,53 \pm 0,43^a$	$0,7 \pm 0,1^b$

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pela ANOVA/ Tukey ($p < 0,05$), com base em 3 repetições, valores expressos em médias seguido pelo desvio padrão.

4.5 AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DA BAINHA DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes* Kunth) E DO COMPOSTO RESIDUAL DA PRODUÇÃO DE COGUMELO *Pleurotus ostreatus* COMO CONDICIONADOR DE SOLO NO DESENVOLVIMENTO DE ALFACE (*Lactuca sativa*) cv. Verônica

A concentração dos nutrientes da análise de solo está apresentada nas Tabelas 30 e 31.

TABELA 30 – ANÁLISE DE ROTINA PARA AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE DO SOLO COM ADIÇÃO DE R_p E R_c APÓS 40 DIAS DE COMPOSTAGEM, PRÉ-CULTIVO. ACIDEZ TROCÁVEL (Al^{+3}) E TITULÁVEL ($H^+ + Al^{+3}$), POTÁSSIO (K^+), MACRONUTRIENTES SECUNDÁRIOS (Ca^{+2} E Mg^{+2}) E SOMA DE BASES (Ca^{+2} , Mg^{+2} E K^+).

Tratamento	pH ($CaCl_2$)	Al^{+3}	$H^+ + Al^{+3}$	Ca^{+2}	Mg^{+2}	K^+	SB
				(cmol _d /dm ³)			
T1	6,30	0,00	3,00	5,30	2,70	0,98	8,98
T2	6,20	0,00	3,00	2,80	2,80	0,93	6,53
T3	6,30	0,00	2,70	4,00	2,60	1,15	7,75
T4	6,30	0,00	2,50	4,00	2,60	1,18	7,78
T5	6,00	0,00	4,40	4,60	2,90	1,21	8,71
T6	6,00	0,00	3,40	4,50	3,10	1,50	9,10
T7	6,10	0,00	2,50	4,10	2,90	1,33	8,33

Tratamentos utilizados: T1 (Solo), T2 (Solo + 5% de R_p), T3 (Solo + 10% de R_p), T4 (Solo + 15% de R_p), T5 (Solo + 5% de R_c), T6 (Solo + 10% de R_c) e T7 (Solo + 15% de R_c).

Os valores de pH entre 6 e 6,3 para o solo de pré-cultivo para os tratamentos T1-T7 encontram-se adequados de acordo com Olenik *et al.* (2004). O alumínio (Al^{+3}) é um elemento tóxico, pois restringe o crescimento radicular das plantas, estando associado à acidez trocável. Nas amostras analisadas não houve presença de Al^{+3} , podendo o solo ser classificado como de muito baixa acidez potencial.

A quantidade de cálcio (Ca^{+2}) foi classificada como média (entre 2,41 a 4,80 cmol_d/dm³) e alta (superior a 4,80 cmol_d/dm³) para os diferentes tratamentos, classificados como bom e muito bom, respectivamente, segundo Ribeiro *et al.* (1999), adequado para o funcionamento dos meristemas, reprodução celular e para a constituição da parede celular a lamela média, que é composta principalmente de pectato de cálcio (REIS, 1997).

O magnésio (Mg^{+2}) apresentou valores superiores a 0,90 cmol_d/dm³, sendo adequado para o processo de fotossíntese, no aumento da clorofila e na ativação de

enzimas para metabolismo dos carboidratos, classificado como solo de alta quantidade em magnésio (RIBEIRO *et al.*, 1999).

O potássio (K^+) apresentou valor superior a $0,3 \text{ cmol}_e/\text{dm}^3$ em todos os tratamentos, classificado como muito alto, possibilitando o desdobramento dos açúcares na respiração, pela síntese do amido e das proteínas e a fosforilação oxidativa e fotossintética (REIS, 1997).

A soma de bases (SB), que é a soma do $\text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2} + \text{K}^+$, se demonstrou superior a 3,6; classificada como bom/muito bom em todos os tratamentos (RIBEIRO *et al.*, 1999).

TABELA 31 - ANÁLISE DE ROTINA PARA AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE DO SOLO PARA VALORES DE CAPACIDADE DE TROCA CATIÔNICA (T), FÓSFORO (P), CARBONO (C), MATÉRIA ORGÂNICA (MO), PORCENTAGEM DE SATURAÇÃO POR BASES (V) E ALUMÍNIO (M) NO SOLO COM ADIÇÃO DE R_P E R_C APÓS 40 DIAS DE COMPOSTAGEM

Tratamento	T (mg/dm^3)	P	C (g/dm^3)	MO	V (%)	m	Ca/Mg
T1	11,98	210,3	18,2	31,38	75	0	1,96
T2	9,53	65	18,2	31,38	69	0	1,00
T3	10,45	56,7	17,2	29,66	74	0	1,54
T4	10,28	47,4	17,2	29,66	76	0	1,54
T5	12,11	51,1	16,2	27,93	72	0	1,59
T6	12,5	52,8	18,2	31,68	73	0	1,45
T7	10,83	49,5	19,2	33,10	77	0	1,41

Tratamentos utilizados: T1 (Solo), T2 (Solo + 5% de R_P), T3 (Solo + 10% de R_P), T4 (Solo + 15% de R_P), T5 (Solo + 5% de R_C), T6 (Solo + 10% de R_C) e T7 (Solo + 15% de R_C).

A capacidade de troca catiônica do solo (T) foi classificada como boa para todos os tratamentos, possibilitando maior potencial de armazenamento de nutrientes catiônicos na forma trocável (COSTA, 2008).

A quantidade de fósforo (P), de acordo com Olenik *et al.* (2004), foi classificada como muito alta nos tratamentos, estando disponível para o metabolismo bioquímico e enzimático dos carboidratos, possibilitando a respiração da alface.

O carbono orgânico (C) se apresentou em quantidade superior a $14,1 \text{ g}/\text{dm}^3$ sendo classificado como alto por Olenik *et al.* (2004). O carbono foi convertido em matéria orgânica (MO), e de acordo com Ribeiro *et al.* (1999), pode ser classificado como um solo muito bom em matéria orgânica para todos os tratamentos.

A porcentagem de saturação por bases (V) foi superior a 50%, classificando o solo como sendo eutrófico ($V \geq 50\%$) ou fértil em todos os tratamentos, com alta quantidade de cátions, possibilitando boa produtividade por estar na faixa de 50 a 80% (RONQUIM,

2010).

A porcentagem por saturação de alumínio (m) foi nula em todos os tratamentos, indicando um solo produtivo, rico em nutrientes, não necessitando de correção de acidez, permitindo o desenvolvimento radicular das plantas (COSTA, 2008).

Após a análise de solo inicial, os solos foram considerados férteis e serviram de substrato para a cultura de alface por 63 dias. Após a colheita, o solo foi novamente analisado, conforme as (Tabelas 32 e 33), respectivamente.

TABELA 32 – ANÁLISE DE ROTINA PARA AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE DO SOLO COM ADIÇÃO DE R_P E R_C APÓS 63 DIAS DE CULTIVO. ACIDEZ TROCÁVEL (Al^{+3}) E TITULÁVEL ($H^+ + Al^{+3}$), POTÁSSIO (K^+), MACRONUTRIENTES SECUNDÁRIOS (Ca^{+2} E Mg^{+2}) E SOMA DE BASES (Ca^{+2} , Mg^{+2} E K^+)

Tratamento	pH ($CaCl_2$)	Al^{+3}	$H^+ + Al^{+3}$	Ca^{+2}	Mg^{+2}	K^+	SB
				(cmol _d /dm ³)			
T1	6,10	0,00	3,20	5,10	3,30	0,52	8,92
T2	6,20	0,00	3,20	5,20	3,10	0,85	9,15
T3	6,40	0,00	2,70	5,30	3,10	1,27	9,67
T4	6,40	0,00	2,50	4,50	2,80	1,07	8,37
T5	6,20	0,00	3,20	5,00	3,00	1,03	9,03
T6	6,40	0,00	3,00	5,00	2,90	1,14	9,04
T7	6,50	0,00	2,70	4,50	2,80	1,29	8,59

Tratamentos utilizados: T1 (Solo), T2 (Solo + 5% de R_P), T3 (Solo + 10% de R_P), T4 (Solo + 15% de R_P), T5 (Solo + 5% de R_C), T6 (Solo + 10% de R_C) e T7 (Solo + 15% de R_C).

TABELA 33 - ANÁLISE DE ROTINA PARA AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE DO SOLO PARA VALORES DE CAPACIDADE DE TROCA CATIÔNICA (T), FÓSFORO (P), CARBONO (C), MATÉRIA ORGÂNICA (MO), PORCENTAGEM DE SATURAÇÃO POR BASES (V) E ALUMÍNIO (m) NO SOLO COM ADIÇÃO DE R_P E R_C , POR TRATAMENTO, APÓS 63 DIAS DE CULTIVO

Tratamento	T	P	C	MO	V	m	Ca/Mg
	(mg/dm ³)		(g/dm ³)		(%)		
T1	12,12	40,80	23,20	40,00	74	0	1,55
T2	12,35	34,00	26,40	45,51	74	0	1,68
T3	12,37	46,00	23,20	40,00	78	0	1,71
T4	10,87	32,60	23,20	40,00	77	0	1,61
T5	12,23	39,10	19,20	33,10	74	0	1,67
T6	12,04	32,20	17,20	29,65	75	0	1,72
T7	11,29	33,10	21,20	36,55	76	0	1,61

Tratamentos utilizados: T1 (Solo), T2 (Solo + 5% de R_P), T3 (Solo + 10% de R_P), T4 (Solo + 15% de R_P), T5 (Solo + 5% de R_C), T6 (Solo + 10% de R_C) e T7 (Solo + 15% de R_C).

Ao término de 63 dias de cultivo, os solos de pós-cultivo permaneceram com características muito similares aos solos de pré-cultivo (compostado 40 dias), com leve

aumento na quantidade de carbono e matéria orgânica e diminuição na quantidade de fósforo.

Nas Figuras 21 e 22, observa-se o crescimento médio da alface após 23 e 63 dias de plantio, respectivamente.

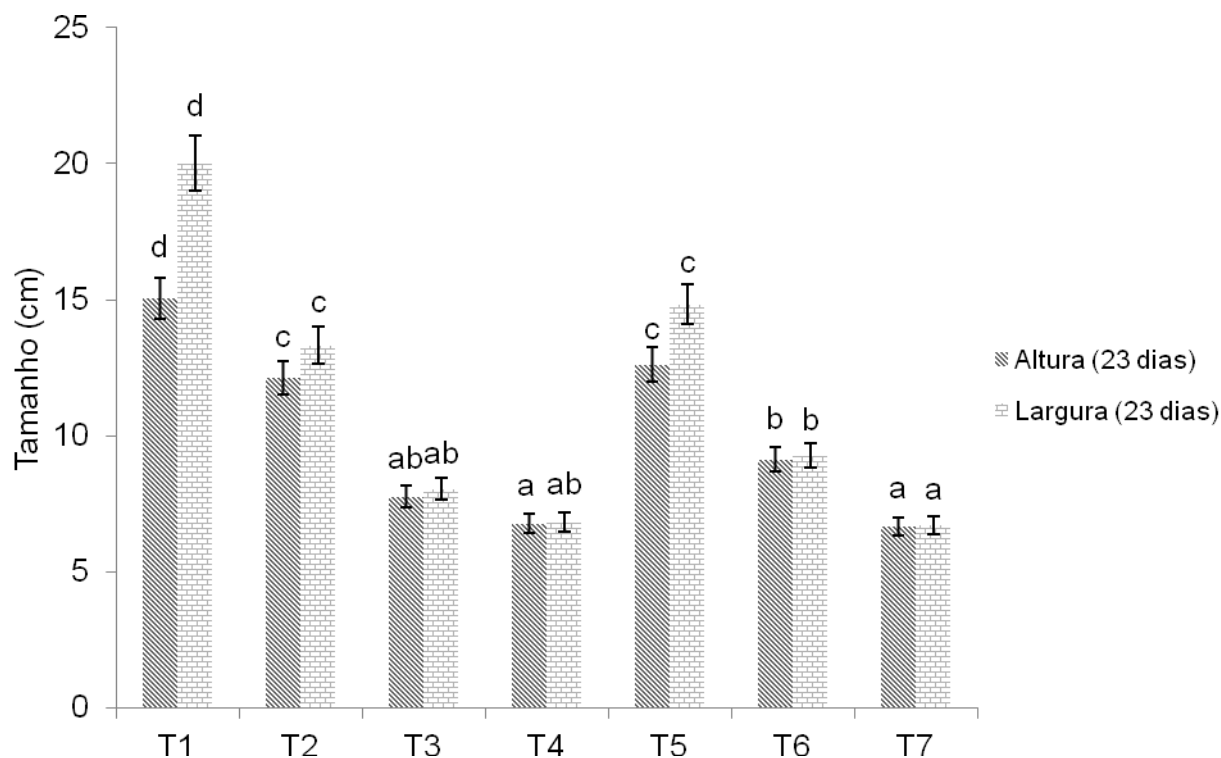


FIGURA 21 - CRESCIMENTO DA ALFACE (cm) PARA ALTURA E LARGURA APÓS 23 DE PLANTIO PARA CADA TRATAMENTO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA, PARA DIFERENTES TRATAMENTOS, NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELA ANOVA/TUKEY ($P < 0,05$), COM BASE EM 20 REPETIÇÕES. TRATAMENTOS UTILIZADOS: T1 (SOLO), T2 (SOLO + 5% DE R_P), T3 (SOLO + 10% DE R_P), T4 (SOLO + 15% DE R_P), T5 (SOLO + 5% DE R_C), T6 (SOLO + 10% DE R_C) E T7 (SOLO + 15% DE R_C).

Em 23 dias de cultivo, os tratamentos com adição de 5% de R ao solo (T2 e T5) apresentaram resultados estatisticamente semelhantes quanto a altura e largura das alfaces, porém inferiores quanto ao tratamento sem adição de R_P e R_C (T1). Alguns tratamentos apresentaram moscas na superfície da terra contida nos vasos, e os tratamentos contendo R_C apresentavam crescimento de pequenos basidiomas no solo, indicando que a compostagem não havia sido realizada por completa, principalmente nos vasos contendo R_P e R_C em maiores concentrações (T4 e T7), o que resultou no desenvolvimento inadequado da planta.

O ataque microbiano à matéria orgânica resulta na liberação de elementos químicos importantes, como o nitrogênio, o cálcio, o fósforo e o magnésio, os quais deixam a forma imobilizada (grandes cadeias), e passam à forma de nutrientes minerais

(mineralizada), disponíveis às plantas e aos demais micro-organismos (FUNDAÇÃO DEMÓCRITO ROCHA, 2014). Observou-se que quanto maior a adição de resíduo de pupunha, com ou sem micélio do cogumelo (R_P e R_C , respectivamente), maior foi a inibição do crescimento da planta. De acordo com a fisiologia das plantas analisadas, observou-se competição de nutrientes entre a planta e a microbiota nativa do solo, que utilizou o nitrogênio, oriundo da matéria orgânica do R_P e do micélio fúngico (R_C) para realizar o processo de compostagem, que ainda não havia se completado, não disponibilizando este mesmo elemento para a planta, se encontrando deficitária no solo, conforme demonstrado na Tabela 34, resultando na diminuição da produtividade (Fig. 21 e 22) e no peso médio da cabeça da alface (BRANCO e COUTO, 1962).

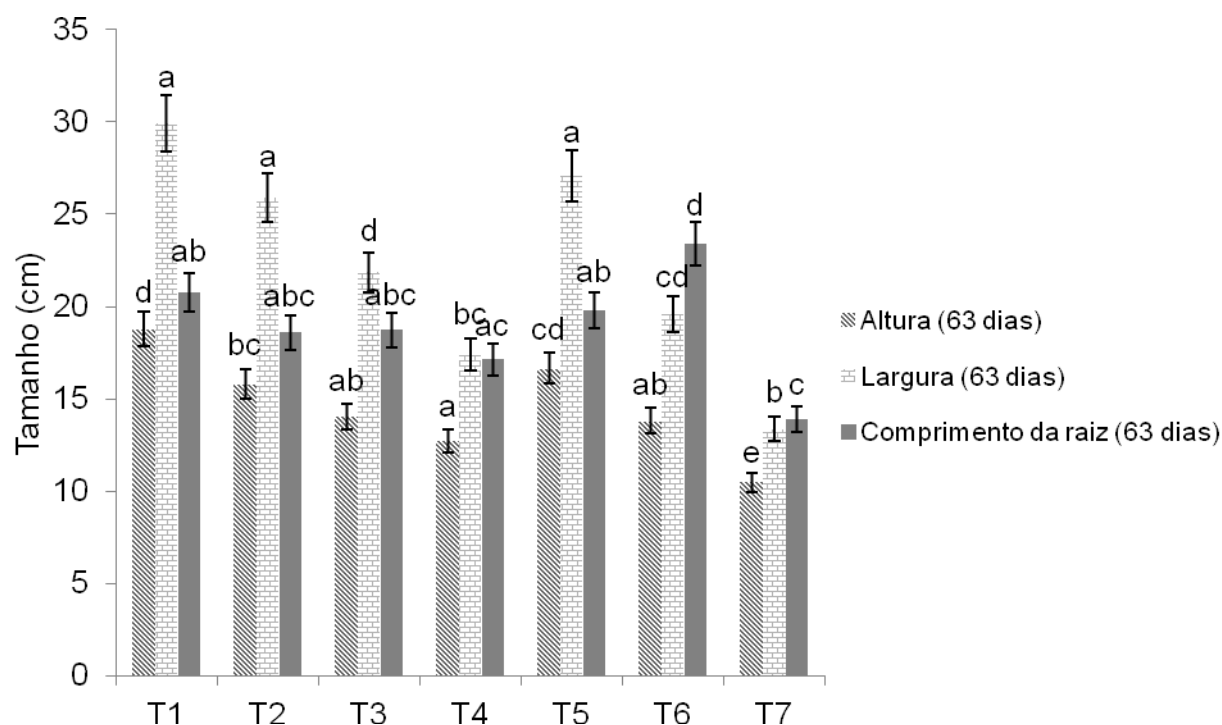


FIGURA 22 - CRESCIMENTO DA ALFACE PARA ALTURA, LARGURA E COMPRIMENTO DA RAIZ (cm) APÓS 63 DE PLANTIO PARA CADA TRATAMENTO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA, PARA DIFERENTES TRATAMENTOS, NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELA ANOVA/TUKEY ($P < 0,05$), COM BASE EM 20 REPETIÇÕES. TRATAMENTOS UTILIZADOS: T1 (SOLO), T2 (SOLO + 5% DE R_P), T3 (SOLO + 10% DE R_P), T4 (SOLO + 15% DE R_P), T5 (SOLO + 5% DE R_C), T6 (SOLO + 10% DE R_C) E T7 (SOLO + 15% DE R_C).

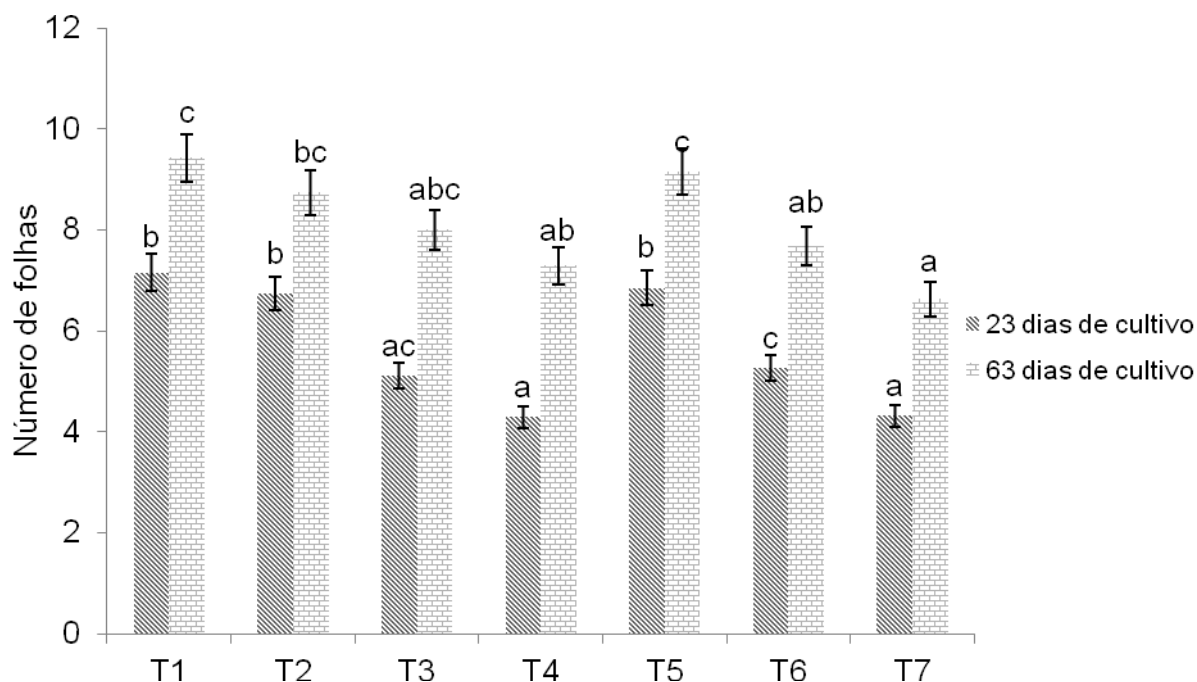


FIGURA 23 – NÚMERO DE FOLHAS DE ALFACE APÓS 23 E 63 DE PLANTIO PARA CADA TRATAMENTO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA, PARA DIFERENTES TRATAMENTOS, NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELA ANOVA/TUKEY ($P < 0,05$), COM BASE EM 20 REPETIÇÕES. TRATAMENTOS UTILIZADOS: T1 (SOLO), T2 (SOLO + 5% DE R_P), T3 (SOLO + 10% DE R_P), T4 (SOLO + 15% DE R_P), T5 (SOLO + 5% DE R_C), T6 (SOLO + 10% DE R_C) E T7 (SOLO + 15% DE R_C).

Aos 63 dias de cultivo, realizou-se a colheita da alface e verificou-se que os tratamentos com adição de 5% de R_P e R_C (T2 e T5, respectivamente) continuaram semelhantes entre si (Figuras 22 e 33). Entretanto, somente o tratamento que continha o micélio fúngico (T5) obteve desenvolvimento da alface estatisticamente semelhante ao tratamento controle, sem adição de R (T1). A bainha de pupunha é altamente fibrosa, dura e com baixo conteúdo em nitrogênio, dificultando o processo de compostagem (TAVARES *et al.*, 2013; FUNDAÇÃO DEMÓCRITO ROCHA, 2014). Devido ao tratamento T5 apresentar menor quantidade de bainha de pupunha, por também conter micélio de *Pleurotus ostreatus*, quando comparado ao tratamento T2, o desenvolvimento da alface foi similar ao T1.

A amostra das plantas dos tratamentos com 5% do R de pupunha contendo *Pleurotus ostreatus* e do controle (solo) são apresentadas nas Figuras 24 e 25 podendo-se observar efeitos visuais no crescimento.

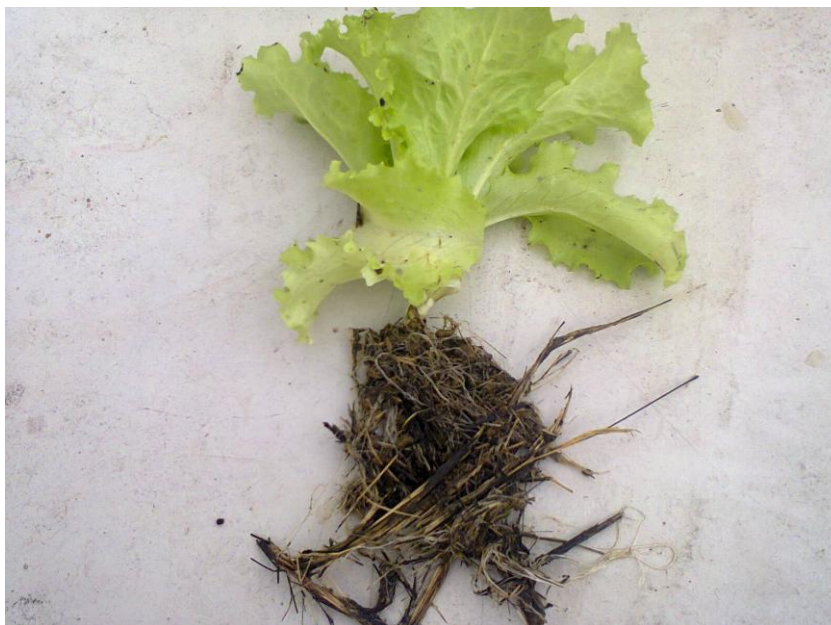


FIGURA 24 – AMOSTRA DA PARTE AÉREA E RADICULAR DE ALFACE APÓS 63 DIAS DE PLANTIO DE SOLO CONTENDO PUPUNHA.

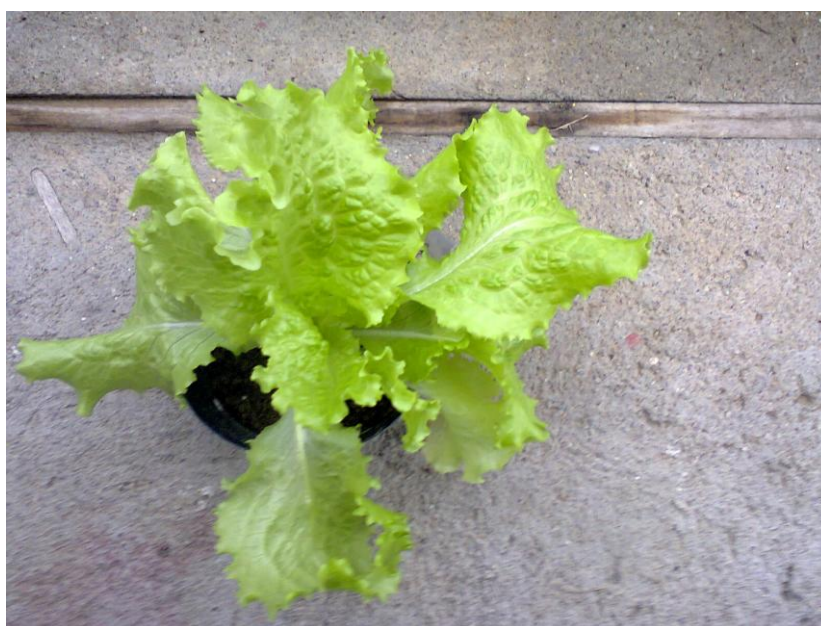


FIGURA 25 - ASPECTO VISUAL DE EXEMPLAR DE *L. SATIVA* CULTIVADOS EM SOLO COM 5% DE CR DE *PLEUROTUS OSTREATUS* (T5) AO FINAL DE 65 DIAS DE CULTIVO.

Na Tabela 34, observa-se que a adição de R_P e R_C no solo não resultou em aumento significativo na quantidade de nitrogênio disponível nas mesmas proporções de adição de substrato residual, por ter sido utilizado para compostagem dos resíduos. Pelo conteúdo de nitrogênio nas fibras de pupunha ser muito baixo e o micélio de *Pleurotus ostreatus* ainda apresentar crescimento de basidiomas no solo após 23 dias de cultivo de alface, verificou-se que aos 63 dias de cultivo a adição do micélio pouco aumentou a

quantidade de nitrogênio no solo.

TABELA 34 – VALORES DE NITROGÊNIO (N₂) NO SOLO PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS (T1-T7) APÓS 63 DIAS DE PLANTIO DE ALFACE

Tratamento	N ₂ (g/Kg)	Equivalência (%)
T1	2,19	-
T2	2,16	-1,36
T3	2,44	+10,24
T4	2,62	+16,41
T5	2,58	+15,12
T6	2,59	+15,44
T7	2,52	+13,10

Tratamentos utilizados: T1 (Solo), T2 (Solo + 5% de R_P), T3 (Solo + 10% de R_P), T4 (Solo + 15% de R_P), T5 (Solo + 5% de R_C), T6 (Solo + 10% de R_C) e T7 (Solo + 15% de R_C).

Os tratamentos (Figuras 22 e 23) com maior adição de composto residual, tanto de R_P quanto de R_C, apresentaram maiores valores para largura, devido ao aumento do ângulo entre caule e folha resultante da falta de nitrogênio disponível para a planta (PURVIS; CARULOS, 1964; WALLACE, 1961; FERNANDES; HAAG, 1971).

Variações no peso seco total, aéreo e radicular dos espécimes de *L. sativa* foram verificadas em função da dose de R adicionada em relação à quantidade de solo, no decorrer do tempo, como é observado nas (Figuras 26, 27, 28 e 29).



FIGURA 26 – PARTE AÉREA DA ALFACE COLHIDA APÓS 63 DIAS DE PLANTIO PARA OS TRATAMENTOS DE SOLO (T1-T7) CONTENDO PUPUNHA COM (R) E SEM MICÉLIO DE *PLEUROTUS OSTREATUS*.



FIGURA 27 – PARTE RADICULAR DA ALFACE COLHIDA APÓS 63 DIAS DE PLANTIO PARA OS TRATAMENTOS DE SOLO (T1-T7) CONTENDO PUPUNHA COM (R) E SEM MICÉLIO DE *Pleurotus ostreatus*.

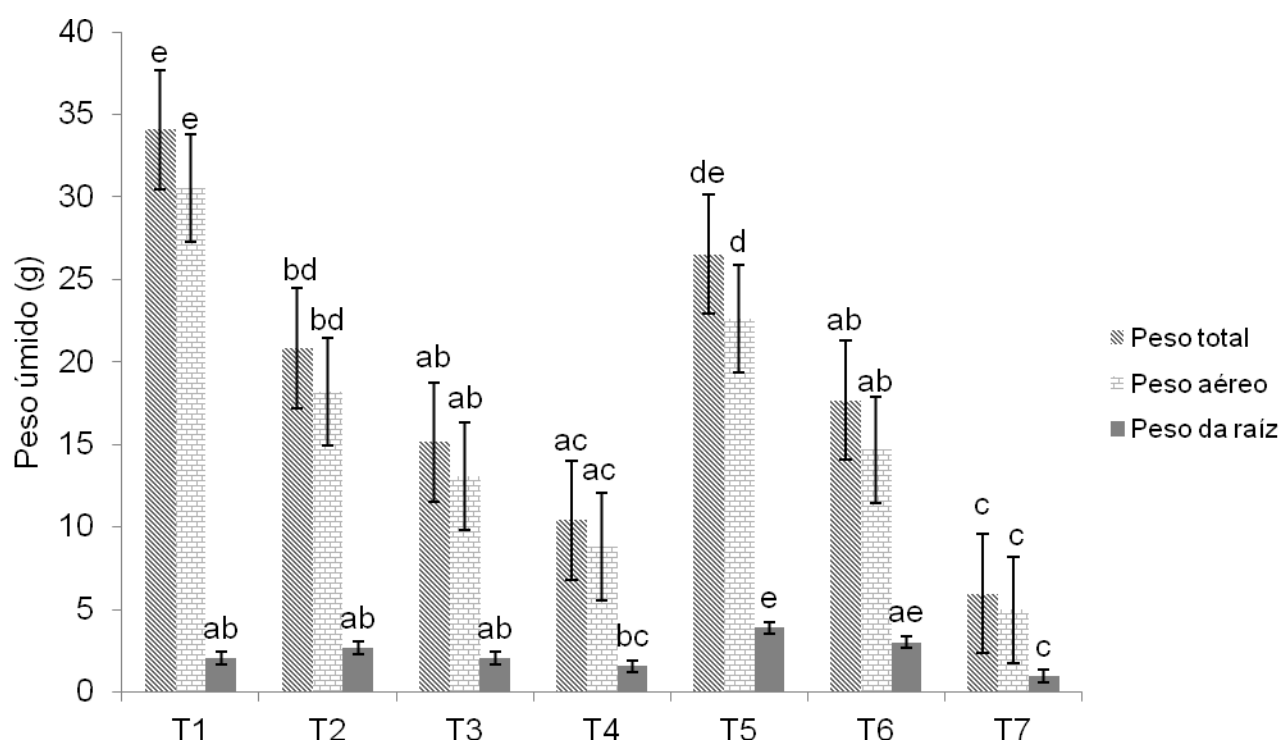


FIGURA 28 – PESO ÚMIDO (G) DA PARTE AÉREA, DA RAIZ E TOTAL DA ALFACE APÓS 63 DIAS DE PLANTIO (COLHEITA DA ALFACE) PARA CADA TRATAMENTO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA, PARA DIFERENTES TRATAMENTOS, NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELA ANOVA/TUKEY ($P < 0,05$), COM BASE EM 20 REPETIÇÕES. TRATAMENTOS UTILIZADOS: T1 (SOLO), T2 (SOLO + 5% DE R_p), T3 (SOLO + 10% DE R_p), T4 (SOLO + 15% DE R_p), T5 (SOLO + 5% DE R_c), T6 (SOLO + 10% DE R_c) E T7 (SOLO + 15% DE R_c).

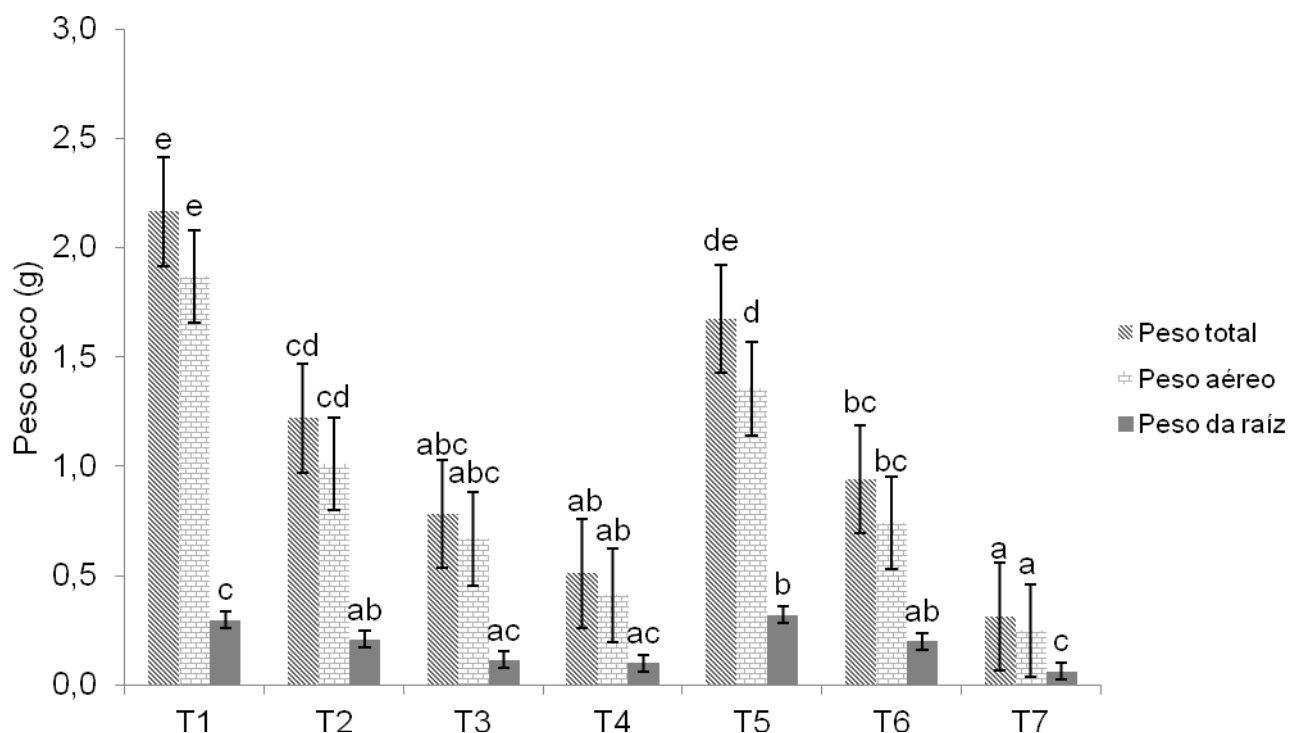


FIGURA 29 – PESO SECO (G) DA PARTE AÉREA, DA RAIZ E TOTAL DA ALFACE APÓS 63 DIAS DE PLANTIO (COLHEITA DA ALFACE) PARA CADA TRATAMENTO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA, PARA DIFERENTES TRATAMENTOS, NÃO DIFEREM ESTATISTICAMENTE PELA ANOVA/TUKEY ($P < 0,05$), COM BASE EM 20 REPETIÇÕES. TRATAMENTOS UTILIZADOS: T1 (SOLO), T2 (SOLO + 5% DE R_P), T3 (SOLO + 10% DE R_P), T4 (SOLO + 15% DE R_P), T5 (SOLO + 5% DE R_C), T6 (SOLO + 10% DE R_C) E T7 (SOLO + 15% DE R_C).

Avaliando-se o desenvolvimento das plantas nos tratamentos com R (Figuras 28 e 29), observou-se menor peso seco de todos os parâmetros em relação ao controle. Quanto maior a adição de R, menor o crescimento das plantas. Os tratamentos com 5% de R misturados à terra, R_P e R_C , levaram a uma diminuição no peso seco aéreo de 1,7 e 1,2 vezes, 44 e 22% respectivamente, em relação ao controle (T1). Este resultado evidencia que maiores teores, tanto de R_P quanto de R_C , prejudicaram o desenvolvimento vegetal para todos os parâmetros do desenvolvimento.

O crescimento das plantas, adicionados de 5% desses resíduos no solo, pode estar relacionado com o aumento da capacidade de retenção de água no solo, o melhoramento de sua estrutura e o fornecimento de fontes de P, K e MO. Dependendo de sua concentração, os nutrientes podem ser prejudiciais em termos de condicionamento de solos. Tanto o R_P quanto o R_C apresentam elevados teores de potássio (K) e fósforo (P). Maher *et al.* (2000) ao analisarem a composição média de 13 amostras de R, verificaram um alto nível de K inicial (entre os nutrientes solúveis em água) e uma elevada condutividade elétrica, limitando sua utilização imediata como um meio para o crescimento de plantas (CHONG e RINKER, 1994; GUO *et al.*, 2001). Este

fato é resultado da sensibilidade de algumas plantas a elevados teores de sais (BEYER *et al.*, 2003; CHONG, 2004), como é o caso da alface, porém nesse estudo o fator limitante para o desenvolvimento da alface foi o teor de nitrogênio disponível no solo.

Devido a este motivo, diversos autores recomendam um período de maturação do R, antes de sua aplicação, como descrito por Guo *et al.* (2001), que estabelece que o composto deve ficar em repouso, sob condições climáticas ambientais, por aproximadamente dois anos antes de ser reutilizado. No entanto, Chang (1987), em seus estudos, recomenda um período de 2 a 3 meses de maturação no campo, antes da aplicação, enquanto Beyer *et al.* (2003) indica um período de no mínimo 6 meses.

Quantidades inadequadas de compostos orgânicos oriundos do R da produção de cogumelos para fertilização do solo e aumento da CE em quantidade acima do ideal também foram relatados por outros autores. Vavrina *et al.* (1996), em seus experimentos com vasos, em casa de vegetação, avaliando-se o efeito das concentrações de 5, 10, 15, 25 e 30% de R (v/v) misturado à turfa, com turfa utilizada como controle, no desenvolvimento de tomate, observou que na primeira colheita, não houve grande diferença entre o peso das plantas adicionadas de R com até 20%. Porém, adições superiores proporcionaram diminuição no crescimento da planta. Em outro experimento, utilizando palha de centeio, na primeira colheita a produtividade foi maior com adições de R equivalentes a 50 t/ha. Contudo, para doses mais elevadas, houve uma redução no crescimento da planta, provavelmente devido à elevação da condutividade elétrica (MAHER, 1994).

Ribas *et al.* (2009), em suas pesquisas para desenvolvimento de alface (*Lactuca sativa*) cv. Babá de Verão, com aplicação de R de *Agaricus brasiliensis*, tanto com camada de cobertura à base de turfa quanto à base de solo, com proporções de 5, 10, 25 e 40% (em peso seco), verificaram que a aplicação entre 12,5 e 25% do R úmido para o cultivo de alface favoreceu o seu desenvolvimento.

Desta forma, as proporções de R_P e R_C a serem aplicadas em cada cultura, devem ser adequadamente definidas, a fim de se evitarem problemas de salinidade e, principalmente, disponibilidade de nitrogênio. Verifica-se que a utilização de R na agricultura, oriundo por exemplo da cultura de *Agaricus brasiliensis*, é possível, pois o fungo cresce a partir de um substrato já previamente compostado, condição de meio necessário para o seu desenvolvimento. Cogumelos lignocelulíticos, como o *Pleurotus* spp., apresentam R muito fibroso e pobre em nitrogênio (MEMBRILLO *et al.*, 2008), havendo a necessidade de um período completo de compostagem, para posterior utilização no enriquecimento de solo para diversas culturas agrícolas.

De maneira geral, no que se refere à possibilidade de substituição da fertilização química (NPK) pela adubação com o R_P ou R_C sem prévia compostagem, verificou-se que sua adição não pôde substituir a adubação NPK, obtendo-se parâmetros de peso seco inferiores ao nível comercial, necessitando-se de um período completo de compostagem de R_P e R_C para incorporação de nitrogênio no solo.

5 CONCLUSÃO

A capacidade das diferentes espécies de cogumelos utilizarem vários substratos depende tanto do perfil enzimático e metabólico do cogumelo quanto dos fatores associados ao substrato. A compreensão do impacto de resíduos-substratos em processos de bioconversão e a utilização dos seus elementos nutricionais para o crescimento do micélio para a frutificação, é um pré-requisito a fim de determinar a combinação da composição do substrato e do fungo adequado, no desenvolvimento de um método eficiente quanto a fermentação/cultivo, para obtenção de compostos de alto valor nutritivo e medicinal.

Os resultados demonstraram que, dentre as espécies testadas, *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus djamor* foram as que mais se adaptaram à pupunha como substrato. O fator mais significativo para o aumento da quantidade de biomassa e frutificação no meio fermentado por *Pleurotus djamor* foi a concentração de substrato de pupunha (80%). Os fatores mais significativos para o aumento do conteúdo proteico foram a concentração (80%) e o extrato de levedura (4,0 g/L). O fator mais significativo para o aumento da atividade antioxidante do produto final foi a adição de extrato de levedura (4,0 g/L).

Em relação a fermentação em estado sólido utilizando *Pleurotus ostreatus*, no primeiro ciclo de frutificação o aumento na fração de inóculo com um menor número de furos no pacote tende a aumentar a Eficiência Biológica (EB). Em relação a produtividade (P), apenas o aumento no número de furos foi estatisticamente significativo no desenvolvimento do fungo, demonstrando que quanto maior o número de furos, maior a produtividade. No segundo ciclo de frutificação, verificou-se que uma menor quantidade de inóculo com maior número de furos possibilita maior EB. A menor quantidade de inóculo e número de furos, possibilitam maior P, demonstrando que quanto maior a EB ou P no primeiro ciclo de frutificação, menor será no segundo ciclo de frutificação. A concentração de umidade, cinzas e lipídeos no basidioma, independe da quantidade de inóculo ou do número de furos. O aumento na fração de inóculo resultou no aumento da quantidade de proteínas, e carboidratos totais nos cogumelos obtidos. Este princípio pode ser explorado para o desenvolvimento processos para a produção de cogumelos com propriedades nutricionais melhoradas.

A água de hidratação residual mostrou-se um substrato útil para o cultivo micelial de espécies do gênero *Pleurotus*. Os produtos obtidos a partir do cultivo *Pleurotus djamor* e *Pleurotus ostreatus* utilizando a fração interna da bainha de pupunha apresentaram

maior atividade antioxidante em relação aos cultivos utilizando a fração intermediária. O rendimento de biomassa não variou significativamente em função da cepa ou da fração do resíduo utilizada como substrato.

A mistura tanto de resíduos do processamento de palmito pupunha quanto de composto residual da produção de cogumelo *Pleurotus ostreatus* como substrato ao solo, tende a diminuir o crescimento de alface. Cogumelos lignocelulolíticos, como o *Pleurotus* spp., apresentam composto residual muito fibroso e com baixo conteúdo em nitrogênio, havendo a necessidade de um período completo de compostagem, para posterior utilização no enriquecimento de solo para diversas culturas agrícolas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADP FERTILIZANTES. Alface. Disponível em: <<http://www.adp-fertilizantes.pt/templates/te-mplate4det.aspx?M=124&F=42&L=43&C=46>>. Acesso em 05 de janeiro de 2014.

AIAG. **Measurement Systems Analysis**, 3a ed. Detroit: Chrysler Corporation, Ford Motor Company and General Motors Corporation, 2002.

ALCAMO, I. E. **Fundamentals of microbiology**. 6. ed. Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers, 2000.

ALLISON, F. E. **Soil organic matter and its role in crop production**. London: Elsevier Scientific Publishing Co., 1973. 637 p.

AMAZONAS, M. A. Curso cultivo de cogumelos comestíveis e Medicinais. In: **Importância do uso de cogumelos: Aspectos Nutricionais e Medicinais**, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 169. p. (Apostila), 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 100 ed. Arlington: A.O.A.C. 1984.

BADO, L. C. Producción de hongos comestibles. In: **Valor nutritivo y toxicología de los hongos**. San Cristóbal de las casas, Chiapas, México, 1994. 108 p.

BALAKRISHNAN, B.; NAIR, M. C. Medicinal Mushrooms. In: Nair, M. C. (Ed.) **Advances in mushrooms biotechnology**. Johpur, Scientific Publisher, chap. 4, p.27-30. 1994.

BALDIAN, P. Fungal laccases-occurrence and properties. **FEMS Microb. Rev.** 30: 215-242, 2005.

BALDRIAN, P.; VALÁŠKOVÁ, V. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. **FEMS Microbiol Rev.** 32: 501-521, 2008.

BANO, Z. RAJARATHNAM, S. *Pleurotus* mushrooms: Chemical compositional, nutritional value, post-harvest physiology, preservation and role as human food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v.27, n.2, p.871-158, 1988.

BAYER, C. Características químicas do solo, nutrição e rendimento do milho afetados por métodos de preparo e sistemas de culturas. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1992. 172p. (Dissertação de Mestrado).

BERNÁS, E.; JAWORSKA, G.; LISIEWSKA, Z. Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, Technol. Aliment. v. 5 (1), p. 5-20, 2006.

BEYER, D. M.; *et al.* **Basic Procedures for Agaricus Mushroom Growing**. 2003.

BISARIA, R.; MADAN, M.; BISARIA, V. S. Biological efficiency and nutritive value of *Pleurotus sajor-caju* cultivated on different agro-wastes. **Biological Wastes**, v.19, n.4, p. 239-255, 1987.

BISARIA, R.; MADAN, M.; VASUDEVAN, P.; BISARIA, N. S. Effect of variation in size of containers on yield of *Pleurotus sajor-caju*. **Biological Wastes**, v.30, n.1, p.149-152, 1989.

BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H. M. FURLAN, S. A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v.88, p.425-428, 2004.

BONONI, V. L. R.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S. F. B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Editora ícone, 1999. p. 12-163.

BONONI, V. L. R.; MAZIERO, R.; CAPELARI, M. *Pleurotus ostreatoroseus* of edible fungi. In: L.J.L.D. VAN GRIENSVEN (Ed.). **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkema, v.2, p.531-532, 1991.

BRAGA, G. C. **Produtividade de Agaricus blazei Murril em Função do Ambiente de Cultivo, Massa do Substrato e Camada de Cobertura**. Botucatu, 1999.

BRANCO, A. A., COUTO, F. A. A. **Revista Olericultura**. 2:88-96, 1967.

BRAR, S. K.; DHILLON, G. S.; SOCCOL, C. R. **Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals**. 1. Ed. Springer, 2013, 439p.

BROWN, P. L. & DICKEY, D. D. Losses of wheat straw residue under simulated field conditions. **Proceedings - Soil Science Society of America**., v.34, p.118-121, 1970.

BR-BUSINESS. Shimeji. Disponível em <<http://br-business.com.br/port/shimeji.htm>>. Acesso em 03 agosto de 2009.

BUSWELL, J. A.; CAI, Y. J.; CHANG, J. F.; PEBERDY, S. Y.; YU, F.; YU, H. S. Lignocellulolytic enzyme profiles of edible mushroom fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.12 p.537-542, 1996.

CAMARGO FILHO, W. P.; CAMARGO, F. P. Planejamento da produção sustentável de hortaliças folhosas: organização das informações decisórias ao cultivo. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 38, n. 3, 2008, p. 27-36.

CAPELARI, M. Atividade biodegradadora e cultivo de três espécies comestíveis de basidiomicetos: *Pleurotus* sp. e *Agrocybe perfecta* (Rick) Sing. 1996. Tese (Doutorado em Botânica), Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C. **The Fungi**. 3. ed. London: Academic Press, 1996.

CASSOU, R. D., WISBECK, E., GERN, R. M. M. FURLAN, S. A. Avaliação do crescimento micelial de cogumelos do gênero *Pleurotus* para produção de "spawn". Caderno de Iniciação à Pesquisa, UNVILLE, v.3, p. 70-72. 2001

CASTRO, A. L. A.; *et al.* Avaliação da produção de *Pleurotus sabor-caju*, utilizando resíduo do beneficiamento têxtil do algodão como substrato. **Ciências Agrárias**. UFLA. 2006.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Editora UNICAMP, 2003. p. 37-47.

CHAIMSOHN, F. P. Cultivo de pupunha para palmito. Importância, mercado e aspectos biológicos e agrônômicos. In: **Curso sobre cultivo, processamento e comercialização de palmito pupunha**. Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR, Londrina: Imprensa do Instituto Agrônômico do Paraná. 39-48p., 2001.

CHANG, S. T. Microbial biotechnology – integrated studies on utilization of solid organic wastes. **Resources and Conservation**, v.13, 1987, p.75-82.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. A new look at cultivated mushrooms. **Bioscience**, v.34, n.6, p.358-362, 1984.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. **Edible mushrooms and their cultivation**. CRC Press, inc Boca Raton (FL), 1989.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. **Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value Medicinal Effect**

and Envirommental Impact. 2ed. CRC Press Boca Raton, 2004.

CHIU, S. W.; LAW, S. C.; CHING, M.; CHEUNG, K. W.; CHEN, M. J. Themes for mushroom exploitation in the 21st century: sustainability, waste management and conservation. **Journal of General an Applied Microbiology**, v.46, p.269-282, 2000.

CHONG, C. **Growing on wastes: a success story and resource (Abridged)**. Disponível em:<<http://www.evergreen.ca>>. Acesso em: jun. 2004.

CHONG, C.; RINKER, S. L. Use of spent mushroom substrate (SMS) for growing containerized woody ornamentals: An overview. **Compost Science and Utilization**, v.2, p.45-54, 1994.

CLEMENT, C. R. Frutas da Amazônia. **Ciência Hoje**, v.14, n.83, p. 28-37, 1992.

COLAUTO, N. B.; EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A. Fatores físicos que afetam a produtividade do cogumelo comestível *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. **Científica**, São Paulo, v. 26, p. 25-43, 1998.

CONDÉ, V. F. *et al.* Produção de *Pleurotus ostreatus* com materiais alternativos como facilitador do processo de ensino e aprendizagem nos diferentes níveis de ensino. In: **VII Simpósio Internacional Sobre Cogumelos no Brasil**, Manaus, 2013.

CORRÊA Jr, C. et.al. **Palmeiras para produção de palmitos e frutos**. Curitiba: Instituto EMATER, 2011. p. 17-28.

COSTA, M. C. G. **Apostila do curso de interpretação de análises de solo e recomendação de calagem e adubação no estado de Roraima**. Boa vista: Embrapa Roraima, 2008. 07-11p. (Apostila).

COSTA, C. P.; SALA, F. C. A evolução da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, artigo de capa, 2005.

DAS, N.; MUKHERJEE, N. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* on weed plant. **Bioresource Technology**, 98: 2723-2726, 2007.

DALIMOV A, G. N.; AKHMEDOV A, Z. R. Biodestruction of lignins by the basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. **Chemistry of Natural Compounds**, v.37, n.1, p.83-85, 2001.

DELISTOIANOV, F. **Produção, teores de nitrato e capacidade de rebrota de cultivares**

de alface, sob estufa, em hidroponia e solo, no verão e outono. Viçosa: UFV, 1997. 76 p. (Tese mestrado).

DEL BIANCHI, V. L.; MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. In: **Biotecnologia industrial: Fermentação em estado sólido.** 1. ed. São Paulo: Editora Afiliada, 2001. p. 247-270. 2 v.

DIAS, E. S. Mushroom production in Brazil: Current situation and future perspectives. World Society for Mushroom Biology and Mushroom Products, Bulletin Number 8. 31 de Janeiro de 2013. (http://wsmbmp.org/Bulletin_8_Content.html#donde).

DIAS, E. S.; GONTIJO, C. R. L. **Cultivo de cogumelos comestíveis.** Lavras: UFLA, 2000.

DIAS, E. S.; KOSHIKUMO, E. M. S.; SCHWAN, R. F.; SILVA, R. Cultivo de cogumelos *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. 2003.

DOOD, V. A.; MAGETTE, W.; SMYTH, S.; HOWARD, V. 1998. **Spent mushroom compost management.** Agriculture and Food Engineering; University College Dublin, Faculty of Agriculture. Disponível em: <<http://www.ucd.ie>>. Acesso em: jan. 2014.

DONINI, L. P.; BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J. S. Efeito da suplementação com farelos no crescimento in vitro de *Pleurotus ostreatus* e m meio a base de capim-elefante (*Pennisetum* spp.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.3, p.303-309, 2006.

DUPRAT, M. F. L. B. Estudo da produção de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de *Bactris gasipaes* (pupunheira). 2012. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos)-Faculdade de Engenharia de Processos, Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2012.

EICHLEROVÁ, I.; HOMOLKA, L.; NERUD, F.; ZADRAZIL, F.; BALDRIAN, P. Screening of *Pleurotus ostreatus* isolates for their ligninolytic properties during cultivation on natural substrates. **Biodegradation**, v.11, p.279-287, 2000.

EIRA, A. F. *Cultivo de cogumelos (compostagem, condução e ambiente).* In: III REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 2000, Mogi das Cruzes. Secretaria de Agricultura e Abastecimento, p.71- 81. 2000.

EIRA, A. F. **Cultivo do cogumelo medicinal.** Viçosa: Editora Aprenda Fácil, 2003. 25-28.

EIRA, A. A.; BUENO, F. S. **Cultivo de cogumelo Shimeji e Hiratake.** Viçosa: CPT, 2005.

EIRA, A. F.; MINHONI, M. T. A.; BRAGA, G. C.; MONTINI, R. M. ; ICHIDA, M. S.; MARINO, R. H.; COLAUTO, N. B.; SILVA, J.; NETO, F. J. **Manual teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis**. 2. Ed. Botucatú: Unesp,1997.

ELISASHVILI, V. et al. *Lentinus edodes* and *Pleurotus* species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of different composition. **Bioresource Technology**. 99: 457-462, 2008.

EMBRAPA. **Amostragem de solo para análise química**. Planaltina. 1982 (Circular Técnica ,11).

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2 ed. ver. e atual. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

EMBRAPA Milho e Sorgo. Procedimento Operacional Padrão (POP). Processo: Análise de química de solos. Subprocesso: Fertilidade de solos. Atividade: Nitrogênio total. 2003.

EMBRAPA. Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasil e China vão intensificar cooperação para aumentar a produção e consumo de cogumelos. Disponível em <www.portaldoagronegocio.com.br>. Acesso em 04 de Setembro de 2009.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa Produção de Informação, 1999. 412 p.

FAN, L.; SOCCOL, C. R.; PANDEY, A. Detoxificação da casa de café utilizando fungo comestível do gênero *Pleurotus*. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2001, Brasília. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2001. p. 687-690.

FERNANDES, P. D.; HAAG, H. P. Boletim didático n 23. E.S.A. “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 1971.

FERREIRA, E. F. **Produção de cogumelos**. Guaíba, RS: Agropecuária, 1998.

FIGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura – cultura e comercialização de hortaliças**. 2 ed., vol. II, São Paulo: Editora agrônômica “Ceres” Ltda., 1982, 357p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2a ed., UFV, 2003.

FRIZONE, J. A. **Funções de resposta das culturas à irrigação**. Série didática nº6. Escola

Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba-SP. 1993. 42p.

FUNDAÇÃO DEMÓCRITO ROCHA. Compostagem e minhocultura. Disponível em: <<http://fdr.com.br/formacao/compostagem-e-minhocultura/fatores-que-influenciam-na-compostagem/>>. Acesso em 14 de janeiro de 2014.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 64 (2), p. 149-154, 2005.

GAITÁN-HERNÁNDEZ R. et al. Quantitative changes in the biochemical composition of lignocellulosic residues during the vegetative growth of *Lentinula edodes*. **Brazilian Journal of Microbiology**. 42: 30-40, 2011.

GENÇCELEP, H.; UZUN, Y.; TUNÇTÜRK, Y.; DEMIREL, K. Determination of mineral contents of wild-grown edible mushrooms. **Food Chemistry**. v. 113, p. 1033-1036, 2009.

GERN, R. M. M., WISBECK, E., RAMPINELLI, J. R., NINOW, J. L., FURLAN, S. A. Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. **Bioresource Technology**. v. 99, p. 76-82, 2008.

GERN, R. M. M.; LIBARDI Jr. N.; PATRÍCIO, G. N.; WISBECK, E.; CHAVES, M. B.; FURLAN, S. A. Cultivation of *Agaricus blazei* on *Pleurotus* spp. spent substrate. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. 2010; 53 (4): 939-944.

GERRITS, J. P. G. Composition, use and legislation of spent mushroom substrate in the Netherlands. **Compost Science and Utilization**, v.2, p.24-30, 1994.

GERVAIS, P., MOLIN, P. The role of water in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, 13(2-3): 85-101, 2003.

GOMEZ, R. J. H. C. Cultivo submerso de *Pleurotus ostreatus* em bagaço de cana-de-açúcar. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.33, n.3, p.701- 715, 1990.

GOMES, T. M. Efeito do CO₂ aplicado na água de irrigação e no ambiente sobre a cultura da alface (*Lactuca sativa*). Tese (doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001.

GONÇALVES, C. C. M. Evaluation of the cultivation of *Pleurotus sajor-caju* (fries) sing. on cotton textile mill waste for mushroom production and animal feeding. **Ciência e Agrotecnologia**. vol.34 no.1 Lavras Jan./Feb. 2010

GUNDE-CIMERMAN, N. Medicinal value of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. (Agaricales S.I., Basidiomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 1 p. 69-80, 1999.

GUO, M.; CHOROVER, J.; FOX, R. H. Effects of spent mushroom substrate weathering on the chemistry of underlying soils. **Journal of Environmental Quality**, v.30, p.2127-2134, 2001.

GUTIÉRREZ, A; PRIETO, A.; MARTÍNEZ, A. Structural characterization of extracellular polysaccharides produced by fungi from the genus *Pleurotus*. **Carbohydrate Research.**, v. 281, p. 143-154, 1996.

HERNÁNDEZ, B.; LEON, J. Pejibaye (*Bactris gasipaes*). In: HERNÁNDEZ, B.; LEON, J. **Cutivos marginados. Outra perspectiva de 1492**. Roma, FAO, 1992, p.209-219.

KALAC, P.; SVOBODA, L. A review of trace element concentrations in edible mushrooms. **Food Chemistry**. v. 69, p. 273-281, 2000.

KARP, S.; FARACO, V.; AMORE, A.; BIROLO, L.; GIANGRANDE, C.; SOCCOL, V. T.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Characterization of laccase isoforms produced by *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation of sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 735-739, 2012.

KIM, S. W.; HWANG, H. J.; PARK, J. P.; CHO, Y. J.; SONG, C. H.; YUN, J. W. Mycelial growth and exobiopolymer production by submerged culture of various edible mushrooms under different media. **Letters in Applied Microbiology**, v.34, p. 56-61, 2002.

KOMURA, D. L. *Pleurotus ostreatus* variedade *florida*: caracterização estrutural de polissacarídeos do micélio e exopolissacarídeos. 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica)-Faculdade de Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

KHONDKAR, P.; AIDOO, K. E.; TESTER, R. F. Sugar profile of extracellular polysaccharides from different *Tremella* species. **International Journal of Food Microbiology**, v. 79, p. 121-129, 2002.

KURTZMAN, R. H. Nitrogen fixation by *Pleurotus*. **Mushroom Science**, v.10, n.1, p.427, 1978.

LIMA, M. E. *Avaliação do desempenho da cultura da alface (Lactuca sativa)* cultivada em sistema orgânico de produção, sob diferentes lâminas de irrigação e coberturas do solo. 2007. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia: Tecnologia das fermentações**. São Paulo: Editora Universidade de São Paulo, 1975. p. 246-283.

LONGVAH, T.; DEOSTHALE, Y. G. Compositional and Nutritional Studies on Edible wild Mushroom from Northeast India. **Food Chemistry**. v. 63 (3), p. 331-334, 1998.

LONSANE, B. K., SAUCEDO-CASTANEDA, G., RAIMBAULT, M., ROUSSOS, S., VINIEGRA-GONZALES, G., GHILDYAL, N. P., RAMAKRISHMA, M., KRISHNAIAH, M. M. Scale-up Strategies for Solid State Fermentation Systems: a review. **Process Biochemistry**, 26: 1 n 15, 1991.

LOWRY, O. H. *et al.* Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. **Journal of Biology Chemistry**, v. 193, p. 265-276, 1951.

LOSS, E. M. S. *Aproveitamento de resíduos da cadeia produtiva do milho para cultivo de cogumelos comestíveis*. 2009. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2009.

MACAYA-LIZANO, A. V. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* y especies afines (Fungi: *Pleurotaceae*) sobre medios naturales semi-esteriles. **Revista de Biología Tropical**, v.36, n.2, p.255-260, 1988.

MACIEL, G. M. *Desenvolvimento de bioprocesso para produção de xilanases por fermentação no estado sólido utilizando bagaço de cana de açúcar e farelo de soja*. 2006. 133 f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos)-Faculdade de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MAIO, C. S. S.; COSTA, J. A. V. Vieira. Influência da composição do substrato na velocidade de crescimento do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus*. In: XIV SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 2003, Florianópolis. Sinaferm 2003, 2003.

MAFF (Ministry of Agriculture, Food and Fisheries – British Columbia). 2004. Use of spent mushroom compost. In: **Resource management – environmental guidelines for mushroom producers**. Disponível em: <<http://www.agf.gov.bc.ca>>. Acesso em: jan. 2014.

MAHER, M. J.; MAGETTE, W. L.; SMYTH, S.; DUGGAN, J.; DODD, V. A.; HENNERTY, M. J.; McCABE, T. 2000. **Managing spent mushroom compost**. Disponível em: <<http://www.teagasc.ie/research>>. Acesso em: jun. 2012.

MANSUR, M.; KLIBANSKY, M.; GUTIÉRREZ, I.; GONZÁLES, L. Evaluacion de parametros de processo para la producción de hongos del género *Pleurotus* cultivados sobre paja de cana. **Boletim GEPLACEA**, v.9, n.8, p.11-21, 1992.

MANZI, P.; PIZZOFERRATO, L. β -glucans in edible mushrooms. **Food Chemistry**, v. 68 (3), p. 315-318, 2000.

MARINO, R.H. Produtividade de *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. em função dos métodos de isolamento e produção de inoculantes. 1997. 134f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1997.

MATTILA, P., KONKO, K., EUROLA, M., PIHLAVA, J. M., ASTOLA, J., VAHTERISTO, L., HIETANIEMI, V., KUMPULAINEN, J., VALTONEN, M. e PIIRONEN V. Contents of vitamins, Mineral Elements, and Phenolic Compounds in Cultivated Mushrooms. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49 (5), p. 2343-2348, 2001.

MATTILA, P.; SUONPAA, K.; PIIRONEN, V. Functional properties of edible mushrooms. **Nutrition**. v. 16 (7/8), p. 694-696, 2000.

MAZIERO R, ZADRAZIL, F. Effects of different heat pre-treatments of wheat straw on its microbial activity and colonization by different tropical and subtropical edible mushrooms. **World Journal of Microbiology Biotechnology**. v.10, p.374-380, 1994.

MELLO, A. V. *et al.* Avaliação da composição centesimal e da rotulagem de barras de cereais. **e-Scientia**, Belo Horizonte, Vol. 5, N° 2, p. 41-48. 2012.

MEMBRILLO I, SÁNCHEZ C, MENESES M, FAVELA E, LOERA O. Effect of substrate particle size and additional nitrogen source on production of lignocellulolytic enzymes by *Pleurotus ostreatus* strains. **Bioresource Technology**. 2008; 99(16): 7842–7847.

MILES, P. G.; CHANG, S. T. **Biologia de las setas: fundamentos básicos y acontecimientos actuales**. Hong Kong: World Scientific, 1997. 133 p.

MODA, E. M. *Produção de Pleurotus sajor-caju em bagaço de cana- de-açúcar lavado e o uso de aditivos visando sua conservação “in natura”*. 2003. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade Estadual de São Paulo, 2003.

MOO-YOUNG, M.; MOREIRS, A. R.; TENGGERDY, R. P. Principles of solid state fermentation. In: *The Filamentous Fungi*, vol IV: **Fungal Technology**; 117-144, D. E. Simith, D. R. Berry & Kristiansen Eds, M. Arnold, London, 1983.

MOURA, P. L. C. Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação com nêutrons. Dissertação apresentada para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações. Ipen, São Paulo, 2008.

NAVEGANTES, K. C.; ALBUQUERQUE, R. F. V.; DALLA-SANTA, H. S. SOCCOL, C. R.; MONTEIRO, M. C. *Agaricus brasiliensis* mycellium and its polysaccharide modulate the parameters of innate adaptive immunity. **Food and Agricultural Immunology**, v.1, p.1-16, 2012.

NOBEL. **Guia Prático de Cogumelos**, São Paulo, Brasil, 1999, 09p.

OHSE, S.; DOURADO-NETO, D.; MANFRON, P. A.; SANTOS, O. S. Qualidade de cultivares de alface produzidos em hidroponia. **Scientia Agricola**, v.58, n.1, p.181-185, jan./mar. 2001.

OLENIK, J. *et al.* **Análise de solo: tabela para transformação de resultados analíticos e interpretação de resultados**. 3. ed. Curitiba: EMATER, 2004.

OOIJKAAS, L. P., TRAMPER, J., BUITELAAR, R. M. Biomass estimation of *Coniothyrium minitans* in solid-state fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**, 22: 480 n 486, 1998.

ORTEGA, G. M.; MARTINEZ, E. O.; BETANCOURT, D.; GONZALÉZ, A. E.; OTERO, M. A. Bioconversion of sugar cane crop residues with white-rot fungi *Pleurotus* sp. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.8, n.4, p.402-405, 1992.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; MITCHELL, D. New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. **Process Biochemistry**, 35: 1153-1169, 2000.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; RODRIGREZ-LEON, J. A.; NIGAM, P. **Solid-state fermentation in biotechnology: Fundamentals and applications**. New Delhi: Asiatech Publishers, 2001. p. 21-181.

PELCZAR Jr., M. *et al.* **Microbiologia: conceitos e aplicações**. São Paulo: Makron Books do Brasil, 1996.

POPPE, J. Use of agricultural waste materials in the cultivation of mushrooms. **Mushroom Science**, v.15, part I, p.3-19, 2000.

POTAFOS – Instituto da Potassa & Fosfato. **Manual internacional de fertilidade do solo**. 2. ed . Piracicaba, 1998.

PURVIS, E. R.; CAROLUS. R. L. **Unger signs in crops**. 2. Ed. David Mckay, Nova York, 1964.

PUTZKE, J.; WARTCHOW, F. Lista de espécies de *Pluteaceae* (Agaricales) que ocorrem no Brasil. **Biociências**, v. 16, n. 2, p. 110-113, 2008.

RAGUNATHAN, R.; SWAMINATHAN, K. Nutritional status of *Pleurotus* spp. Grown on various agro-wastes. **Food Chemistry**, 80, 371-375, 2003.

RAIJ, B., SILVA, N. M., *et al.* **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas : Instituto Agrônômico, 1985. 107p.

RAJARATHNAM, S. *Pleurotus* mushrooms. Part IA. Morfology, life cicle, taxonomy breeding and cultivation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.26, n.2, p.157-223, 1987.

RAJARATHANAM, S.; SHASHIREKA, M. N.; BANO, Z. Biopotentialities of the basidiomacromycetes. **Advances in Applied Microbiology**, v.37, p.233-361, 1992.

RAMANA MURTHY, M. V., KARANTH, N. G., RAO, K. S. M. S. R. Biochemical Engineering Aspects of Solid-State Fermentation. In: **Advances in Applied Microbiology**, 38: 99 n 147, 1993.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, Orland, v. 26, n. 9-10, p. 1231–1237, 1999.

REIS, E. L. Adubação da pupunheira para produção de palmito no sul da Bahia. Cepec/Senupe/Ceplac/MAPA, FOLDER.1997.

RIBAS L. C. C.; MENDONÇA M. M.; CAMELINI C. M.; SOARES C. H. L. Use of spent mushroom substrates from *Agaricus subrufescens* (syn. *A. blazei*, *A. brasiliensis*) and *Lentinula edodes* productions in the enrichment of a soil-based potting media for lettuce (*Lactuca sativa*) cultivation: Growth promotion and soil bioremediation. **Bioresource Technology**; 100(20): 4750-4757, 2009.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H (Ed.). **Recomendação para o**

uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359.

RICE-EVANS, C. A. *et al.* Antioxidante properties of phenolic compounds. **Trends Plants Science.** 2(4): 152-159, 1997.

RIVAS, P. M. S. Evaluation of pectocellulosical substrates for edible mushrooms production from genus *Pleurotus sp. (agaricales)*. **Cadernos de Pesquisa.** São Luís, v. 17, n. 3, set/dez. 2010.

RODRIGUES, C. Produção, extração e Purificação de Hormônio Vegetal (Ácido Giberélico) por Fermentação no Estado Sólido em Polpa Cítrica e Utilização do Extrato Fermentado em Meio de Cultivo de Bromélias *in vitro*. 2010. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos:** uma estratégia sequencial de planejamentos. Campinas: Casa do Pão Editora, 2005, 326 p.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos.** Cárita Editora, 2009, 97-112 p.

RONQUIM, C. C. **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais.** Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2010. 8p.

ROSADO, F. R.; GERMANO, S.; CARBONERO, E.R.; COSTA, S.M.G.; IACOMINI, M.; KEMMELMEIER, C. Biomass and exopolysaccharide production in submerged cultures of *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. and *Pleurotus ostreatus* "florida" (Jack.: Fr.) Kummer. **Journal of Basic Microbiology**, v. 43, p. 230-237, 2003.

ROSADO, F. R.; CARBONERO, E. R.; KEMMEL-MEIER, C.; TISCHER, C. A.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. A partially 3- O-methylated (1C4)-linked K-D-galactan and K-D-mannan from *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. **Microbiology Letters**, n.21, p.261- 265, 2002.

ROSSI, I. H.; MONTEIRO, A. C.; MACHADO, J. O. Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.6, p.887-891, 2001.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R.E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C. G.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia científica:** determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 4 p.

SALAS, N. Cultivo de hongos comestibles potenciadores del sistema inmunológico. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICOLOGIA, 5., 2005, Brasília. **Resumos**. Brasília, 2005. p.169-173.

SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Aproveitamento de resíduos madeireiros para o cultivo do cogumelo comestível *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Acta Amazônica**. vol.41 no.1 Manaus Mar. 2011.

SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Temperatura e meio de cultura mais favoráveis ao crescimento micelial de uma linhagem de *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Arquivos do instituto de biologia**. v.77, n.3, p.539-543, jul./set., 2010.

SALES-CAMPOS, C.; VIANEZ, B. F.; ABREU, R. L. S. Productivity and Nutritional Composition of *Lentinus strigosus* (Schwinitz) Fries Mushroom from the Amazon Region Cultivated in Sawdust Supplemented with Soy Bran. In: Krezhova, D. Recent Trends for Enhancing the Diversity and Quality of Soybean Products {Internet}. 2011 [citado em: 28 de jul 2013]. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/recente-trends-for-enhancing-the-diversity-and-quality-of-soybeanproducts/productivity-and-nutritional-composition-of-lentinus-strigosus-schwinitz-mushroom-from-the-ama>

SALES-CAMPOS, C.; EIRA, A.F. Cogumelos funcionais e sua importância na saúde humana. In: BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS LIGNOCELULOLÍTICOS DA AMAZÔNIA PARA CULTIVO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS. Manaus. 2011. p. 13-21.

SALMON, D. N. X. PIVA, L. C.; BINATI, R. L.; RODRIGUES, C.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SOCCOL, C. R.; SPIER, M. R. A bioprocess for the production of phytase from *Schizophyllum commune*: studies of its optimization, profile of fermentation parameters, characterization and stability. **Bioprocess and Biosystems Engineering**. V.35(7), p. 1076-1079, 2012.

SANTOS, J. D., *et al.* Development of a vinasse nutritive solution for hydroponics. **Journal of Environmental Management** 2013; 114: 8-12.

SANTOS, V. M. C. S.; CASSOU, R.; GERN, R. M. M.; MENDONÇA, M. M. FURLAN, S. A. Estudo da fração de inóculo e suplementação da palha da bananeira para produção de *Pleurotus sajor-caju*. **Revista Saúde e Ambiente**. v.1, n.1, nov 2000.

SAPATA, M.; RAMOS, C.; FERREIRA, A.; ANDRADA, L.; CANDEIAS, M. Processamento mínimo de cogumelos do gênero *Pleurotus*. **Revista de Ciências Agrárias**, v.33, n.2, dez 2010.

SEMPLE, K. T.; WATTS, N. U.; FERMOR, T. R. Factors affecting the mineralization of [U-14C]benzene in spent mushroom substrate. **FEMS Microbiology Letters**, v.164, p.317-321, 1998.

SILVA, R. F.; ASCHERI, J. L. R.; PEREIRA, R. G. F. A. Composição centesimal e perfil de aminoácidos de arroz e pó de café. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara v.18, n.3, p. 325-330, jul./set. 2007a.

SILVA, E. G.; DIAS, E. S.; SIQUEIRA, F. G. SCHWAN, R. F. Análise química de corpos de frutificação de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em diferentes concentrações de nitrogênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.1, p.72-75, 2007b.

SILVA, E. M.; MACHUCA, A.; MILAGRES, A. M. Effect of cereal brans on *Lentinula edodes* growth and enzyme activities during cultivation on forestry waste. **Letter in Applied Microbiology**, v.40, n.4, p.283-288, 2005.

SILVA, F. A. M.; SILVA, R. B.; VIDAL, T. C. M.; PAVARINI, R. Viabilidade de compostagem para o aproveitamento de resíduos das agroindústrias do palmito e da banana do Vale do Ribeira-SP. In: **Polo de biotecnologia da mata atlântica. "Relatos de pesquisas e outras experiências no Vale do Ribeira"**. Ministério do Meio Ambiente – MMA, Jaboticabal: Maria de Lourdes Brandel-ME. 111-124p, 2010.

SMITH, J.; ROWAN, N. J.; SULLIVAN, R. **Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments**. Cancer Research UK. University of Strathclyde, Maio, 2002.

SCHMIDT, P.; WECHSLER, F. S.; NASCIMENTO, J. S.; VARGAS JUNIOR, F. M. Tratamento do feno de braquiária pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1866-1871, 2003.

SEGNINI A., *et al.* Estudo comparativo de métodos para a determinação da concentração de carbono em solos com altos teores de Fe (latossolos). **Química Nova**; 31(1): 94-97, 2008.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; *et al.* A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n11, p.3562-3577, 1992.

SOCOL C. R. Contribuição ao estudo da fermentação no estado sólido em relação com a produção de ácido fumárico, biotransformação de resíduo sólido de mandioca por *Rhizopus* e basidiomacomicetos do gênero *Pleurotus*. 1996. Tese (Professor titular em Biotecnologia e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1994.

SOCCOL, C. R.; PANDEY, A.; LARROCHE, C. **Fermentation process engineering in the food industry**. 1. Ed CRC Press, 2013, 510p.

SOCCOL, C. R., VANDENBERGHE L. P. S. Overview of applied solid-state fermentation in Brazil, **Biochemical Engineering Journal**. 13:205-18, 2003.

SOMMERFELDT, T. G.; CHANG, C. Change in soil properties under annual applications of feedlot manure and different tillage practices. **Soil Science Society of America Journal**, v.49, p.983-987, 1985.

SOUZA, E. Cultivo de cogumelos no Brasil: situação atual e perspectivas futuras. In: BIOCONVERSÃO DE RESÍDUOS LIGNOCELULOLÍTICOS DA AMAZÔNIA PARA CULTIVO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS, 2011, Manaus. Instituto de Pesquisas Agropecuárias, 2011. p. 77-93.

SOUZA, P. A.; NEGREIROS, M. Z.; MENEZES, J. B.; BEZERRA NETO, F.; SOUZA, G. L. F. M.; CARNEIRO, C. R.; QUEIROGA, R. C. F. Características químicas de alface cultivada sob efeito residual da adubação com composto orgânico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n.3, p. 754-757, jul set.2005.

SPIER, M. R.; XAVIER, D. N.; BINATI, R. L.; CESCO, P. L.; PEDRONI, A. B.; SOCCOL, C. R. Stability of new macromycetes phytases under room, cooling and freezing temperatures on storage. **World Academy of Science, engineering and Technology**, v.67, p.359-363, 2012.

STAMETS, P. **Growing gourmet & medicinal mushrooms**. 3 ed, Berkeley, California: Ten Speed Press. 2000, 552p.

STURION, G. L.; OETTERER, M. Utilização da folha da bananeira como substrato para cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.15, n.2, p.194-200, 1995.

STURION, G. L.; RANZANI, M. R. T. C. Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil – *Pleurotus* spp. e outras espécies desidratadas. **Archives of Latinoamerican Nutrition**. n.1 (50), p.102-108, 2000.

TAUK, S. M. Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociência**. v.20, n.4, p.299-301, 1990.

TAVARES, L. B. B. *et al.* Produção de biocompósito com macrofungo e resíduo de palmeira. In: **VII Simpósio Internacional Sobre Cogumelos no Brasil**, Manaus, 2013.

TAVEIRA, V. C.; NOVAES, M. R. C. G. Consumo de cogumelos na nutrição humana: uma revisão da literatura. **Comunicação em Ciências da Saúde**, v.18, n.4, p.315-322, 2007.

URBEN, A. F. Diversidade de cogumelos funcionais e sua importância na saúde humana. In: **VII Simpósio Internacional Sobre Cogumelos no Brasil**, Manaus, 2013.

URBEN, A. F. Fatores que afetam a assimilação de nutrientes e produção de princípios ativos nos cogumelos. In: **II SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COGUMELOS NO BRASIL**, 2004, Brasília. Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 1985. p. 43-51. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2004. p. 125-133.

URBEN, A. F. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada**. 2. Ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004.

VAVRINA C. S.; et al. **Spent mushroom compost and biological amendments as an alternative to soilless media**. Southwestern Florida Research and Extension Center Station Report. 1996.

VERAS, R. M. L.; et al. Substituição do Milho por Farelo de Palma Forrageira em Dietas de Ovinos em Crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.249-256, 2005.

VIEIRA, L. S.; **Manual da ciência do solo: com ênfase aos solos tropicais**. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 1988.

VIEIRA, V. C. R.; CURY, D. M. L. Graus-dias na cultura do arroz. In: **Congresso brasileiro de Agrometeorologia**. Piracicaba-SP, 1997, Anais. Piracicaba: SBA, 1997. p.47-49.

VILLAS BÔAS, R. L.; PASSOS, J. C.; FERNANDES, M.; BÜLL, L. T.; CEZAR, V. R. S.; GOTO, R. Efeito de doses e tipos de compostos orgânicos na produção de alface em dois solos sob ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p.28-34, jan-mar 2004.

VILLACHICA, H. Pijuayo. *Bactris gasipaes* H.B.K.. In: VILLACHICA, H. **Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia**. Lima, Tratado de Cooperación Amazonica. p. 216-226, 1996.

VILLACHICA L. **Cultivo del pijuayo (*Bactris gasipaes* Kunth) para palmito en la Amazonia**. Lima, Tratado de Cooperación Amazônica, 1996. 153p.
Bio Controle. Bio Rhynchophorus. Capturado na Internet em 17.04.01.
http://www.biocontrole.com.br/bio_rhynchophorus.htm

WALLACE, T. The diagnosis of mineral deficiencies in plants by visual symptoms. Her Majesty's Stationery Office, Londres, 1961.

WATANABE, A. M.; BESSA, L. P. D.; CORRADINI, R. A.; MARTINS, T. G. M.; MONTE SERRAT, B.; LIMA, M. R. **Por que fazer análise de solo?** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, Projeto de Extensão Universitária Solo Planta, 2002. (Folder).

WILLIAMS, B. C.; McMULLAN, J. T.; McCAHEY, S. An initial assessment of spent mushroom compost as a potential energy feedstock. **Bioresource Technology**, v.79, p.227- 230, 2001.

WISEMAN, A. Industrial practice with enzymes. In: WISEMAN, A. **Handbook of enzyme biotechnology**. New York: John Wiley e Sons, 1975. p. 243-272.

YILDIZ, S.; YILDIZ, U. C.; GEZER, E. D.; TEMIZ, A. (2002b). Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. **Process Biochemistry**, 38, 301-306.

ZADRAZIL, F. Influence of the CO₂ concentration on the mycelium growth of three *Pleurotus* species. **European Journal Applied Microbiology**, v. 1, p. 327-335, 1975.

ZADRAZIL, F.; BRUNNERT, H. Influence of ammonium nitrate on the growth and decomposition of higher fungi. **Zeitschrift fur Pflanzenernaehr Bodenkd**, Deerfiel Beach, v.142, n.3, p.446-455, 1979.

ZADRAZIL, F. Screening of fungi for lignin decomposition and conversion of straw into feed. **Angew Botanik**, v. 59, p. 433-452, 1985.

ZANIN, M.; MANCINI, S. D. **Resíduos plásticos e reciclagem**. São Carlos: Ed. UFSCar, 2004.

ZHANG, R.; LI, X.; FADEL, J. G. (2002). Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. **Bioresource Technology**, 82, 277-284.